

GİRİŞ

Uterin düz kas tümörleri oldukça sık rastlanılan neoplazmlardır ve bu grubun çoğunluğunu leiomyomlar oluşturmaktadır. Leiomyomlar doğurganlık çağındaki 35 yaş üzeri kadınların yaklaşık %40'ında görülmektedir (1). Leiomyosarkomlar ise uterin düz kas tümörlerinin küçük bir yüzdesini oluşturmaktadır. Uterin leiomyosarkomlar agresif tümörlerdir, lokal rekürrens ve uzak metastaz yaparlar. Erken evre (evre I-II) hastalık grubunda bile 5 yıllık sağkalım oranı %50'den azdır (2). Bir çalışmada 5 yıllık sağkalım oranı %65 olarak bildirilmiştir (3).

Histolojik olarak bir çok olguda leiomyom ve leiomyosarkom tanıları kolaylıkla konulabilmektedir. Az sayıda uterin düz kas proliferasyonu ise çeşitli nedenlerle tanısız güçlüğe yol açabilmektedir. Bazı leiomyom tiplerinin (atipik leiomyomlar, sellüler leiomyomlar gibi) agresif bir neoplazm olan leiomyosarkomlardan ayırıcı tanısında belirgin zorluklar yaşanabilmektedir. Ayrıca bazı düz kas tümörleri, histolojik kriterlerin kombine edilmesine rağmen, benign veya malign olarak kategorize edilememekte olup, bu olgular malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (STUMP) olarak adlandırılmaktadır. Sonuçta bu ayırımın yapılması, prognostik ve terapötik açıdan büyük öneme sahiptir.

Benign ve malign uterin düz kas neoplazmlarının ayırıcı tanısında en etkili ve güvenilir yol çeşitli mikroskopik özelliklerin birlikte değerlendirilip, analiz edilmesidir. Bu özellikler, sitolojik atipi varlığı ve derecesi, mitotik indeks, nekroz varlığı ve tipi ile çevre doku ile ilişkidir. Diğer önemli özellikler, epitelioid histoloji ve miksoid stroma varlığıdır.

Yıllar içerisinde çok sayıda immünohistokimyasal ve histokimyasal belirleyici kullanılarak yapılan çalışmalarla, uterin düz kas tümörlerinde ayırıcı tanı ve prognostik değerlendirme yapılmaya çalışılmış (1,2,4-13), ancak yapılan çalışmalarda ayırıcı tanıdaki zorluklar tümüyle giderilememiş olup, bu alanda hala eksiklikler mevcuttur.

Karsinogeneizde hücre siklus kontrolünün kaybı önemli bir basamaktır (1). Normal durumda, hücre proliferasyonunun farklı moleküler kaskadlarla regüle edildiği görülür ki bunların çoğunda tümör süpresör proteinler ya da onkogen ürünlerin rol aldığı bilinmektedir (1). Hücre siklus regülatör proteinlerinden olan

p21, siklin bağımlı kinaz (CDK) inhibitörüdür. Bir diğere hücre siklus regülatör proteini olan p16 ise spesifik olarak CDK4'e bağlanır, CDK4-siklin D kompleksinin katalitik aktivitesini inhibe eder ve böylece negatif hücre siklus regülatörü olarak görev yapar. Hücre siklus regülatörlerinin çeşitli tümörlerin gelişimindeki rolleri hakkında çok sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte, mezenkimal neoplazilerdeki rolleri üzerinde çok az çalışılmıştır. Bu proteinlerin uterusun çeşitli düz kas tümörlerindeki ekspresyonları ile ilgili olarak az sayıda çalışma bulunmaktadır (1,2,5,7-9,11,13).

Biz bu çalışmada, uterin düz kas tümörlerinin değerlendirilmesinde hücre siklus belirleyicilerinden olan p16 ve p21 ekspresyonlarının ayırıcı tanıdaki rolünü ve leiomyosarkom olgularında bu proteinlerin prognostik önemini araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

2.1.Uterin Düz Kas Tümörleri

Uterin düz kas tümörleri oldukça sık görülen tümörlerdir ve çoğunluğunu leiomyomlar oluşturur. Uterusun çoğu düz kas tümörünün natürünün tanınması kolaydır, çünkü bu neoplazmaları oluşturan hücreler aşık düz kas diferansiyasyonu gösterirler. Bu tümörlerin klinik davranışları makroskopik görünümüleri ve ışık mikroskopik özellikleri ile genellikle güvenilir bir şekilde tahmin edilebilir. Makroskopik olarak, klasik leiomyomlar hareli kesit yüzeyleri bulunan, çevre myometriümdan kolaylıkla ayırdedilebilen, mitozun seyrek olduğu ya da izlenmediği, sellüler olmayan ve sitolojik olarak atipi içermeyen lezyonlardır (14). Leiomyosarkomlar ise makroskopik olarak büyük, yumuşak kıvamlı, infiltratif sınırları olan, nekrotik ve açıkça malign görünümlü lezyonlardır. Mikroskopik olarak ise atipik, pleomorfik, bizar görünümlü hücreler, bir kısmı atipik özellikte artmış sayıda mitoz ve nekroz içerirler (14). Bununla birlikte, uterin düz kas proliferasyonlarının küçük bir kısmı çeşitli nedenlerle tanısall güçlüklerle yol açarlar. En sık tanı güçlükleri şu gruplardan birine dahil edilebilir (14):

1. Makroskopik, sitolojik veya arşitektürel özellikleri ile malignensiyi düşündüren, klinik olarak benign düz kas tümörleri:

*Dejenere leiomyomlar

*Artmış mitotik indekse sahip leiomyomlar

*Sellüler leiomyomlar

*Dev hücreler de dahil pleomorfik hücrelerin fokal veya diffüz varlığı ile karakterize atipik leiomyomlar

2. Malignensiyi düşündürecek tarzda büyüme gösteren, klinik olarak benign düz kas tümörleri:

*İnfiltratif leiomyomlar ve leiomyomatozis

*Vasküler invazyon gösteren leiomyomlar

*İntravasküler leiomyomatozis

*Leiomyomatozis peritonealis disseminata

*Parazitik leiomyomlar

3. Klinik olarak malign davranış gösteren, morfolojik olarak benign düz kas tümörleri:

*Benign metastaz yapan leiomyomlar

4. Malignensi kriterleri “olağan” düz kas tümörlerinden ayrılan, standardın dışında düz kas diferansiyasyonu gösteren tümörler:

*Epitelioid düz kas tümörleri

*Miksoid düz kas tümörleri

5. Klinik benignensi veya malignensileri hakkında çelişkili mesajlar veren histopatolojik özellik kombinasyonuna sahip düz kas tümörleri

2.1.1. Uterin Düz Kas Tümörlerinin Değerlendirilmesi

Düz kas kökenli olduğu düşünülen uterin bir mezenkimal tümörde, tümörün benign veya malign natürünün değerlendirilmesinden önce, tümörü oluşturan hücrelerin gerçekten düz kas diferansiyasyonu gösterip göstermediği konusunda fikir sahibi olunmalıdır. Çoğu düz kas tümöründe, tümör hücrelerinin normal myometrial hücrelere benzemesi nedeniyle, düz kas diferansiyasyonunun ortaya konmasında önemli bir sorunla karşılaşılmamaktadır. Ancak, bazı olgularda düz kas hücreleri epitelyal hücrelere benzeyebilirler ve epitelioid düz kas tümörlerini oluştururlar. Epitelioid düz kas hücrelerinin aşık düz kas diferansiyasyonu gösteren hücrelerle birlikte olması, tümörün düz kas kökenli olduğu konusunda önemli bir ipucudur. Epitelyal membran antijen (EMA), keratin, aktin ve desmin gibi immunohistokimyasal belirleyiciler de bu konuda yardımcı olabilir. Düz kas hücreleri, karakteristik eozinofilik, fibriller sitoplazmalarını kaybederek ve yuvarlak nüveli hale gelerek endometrial stromal hücrelere de benzerlik gösterebilirler. Hem düz kas hücreleri hem stromal hücrelerin düz kas aktini ve desmin eksprese ettikleri bildirilmekle birlikte, stromal hücrelerde desmin ekspresyonu sıklıkla fokal, düz kas hücrelerinde ise diffüz ve kuvvetlidir. Bu yüzden, desmin-pozitif hücrelerden oluşan tümörlerin düz kas tümörü olarak sınıflandırılması yönünde artmış bir eğilim vardır (15).

Tümörün düz kas diferansiyasyonu gösterdiğinin belirlenmesinden sonraki aşama, tümörün nasıl bir klinik davranış göstereceğini belirlemek üzere klinik, makroskopik ve mikroskopik özelliklerin değerlendirilmesidir. Literatürde uterin düz

kas tümörlerinin tanısı ve prognozu için çeşitli parametreler ileri sürülmüştür. Taylor ve Norris (16) düz kas tümörlerinin benign ve malign kategorilere ayırımında tek değişkenli sınıflama önermişlerdir. Bu çalışmada 10 büyük büyütme alanında (BBA) 10 veya daha fazla mitoz içeren tümörlerin agresif davrandığı ve leiomyosarkom olarak tanımlanması gerektiği, buna karşın düşük mitotik indekse sahip tümörlerin benign olduğu öne sürülmüştür. Bazı araştırmacılar ise leiomyosarkom tanısı için sitolojik atipinin önemi üzerine odaklanmışlardır. Burns ve ark. (17) tüm morfolojik özellikler arasında koagülatif tümör hücre nekrozunun en önemli faktör olduğunu bildirmişlerdir. Bu konuda zaman içerisinde yapılan çok sayıdaki çalışma uterin düz kas tümörlerinin tanısında çeşitli mikroskopik özelliklerin birlikte değerlendirilip, analiz edilmesinin en güvenilir yaklaşım olduğunu göstermiştir (**Tablo 2.1**) (18). Bu özellikler, sitolojik atipi varlığı ve derecesi, mitotik indeks, nekroz varlığı ve tipi ile çevre doku ile ilişkidir. Diğer önemli özellikler, epitelioid histoloji ve mikroid stroma varlığıdır. Uterin düz kas tümörleri geçmişte çeşitli histolojik özellikler temelinde benign (leiomyom) ve malign (leiomyosarkom) olarak iki sınıfta gruplandırılmıştır. Ancak bu ayırım pratikte her zaman geçerli değildir, çünkü tümörün biyolojik potansiyelinin her zaman kesin olarak belirlenebilmesi mümkün olmamaktadır. Son zamanlarda histolojik özelliklerden yola çıkarak klinik gidişin güvenilir bir şekilde tahmin edilemediği olgular için STUMP terimi önerilmektedir (18). Bu terim borderline atipik özelliklere sahip tümörlerin kesin tanısı için eldeki kriterlerin sınırlılığını yansıtan bir tanımlama olup, spesifik bir tanı kategorisi değildir.

Tablo 2.1. Standart Düz Kas Diferansiyasyonu Gösteren Uterin Düz Kas
Tümörlerinin Histolojik Tanı Kriterleri (18).

Tümör hücre nekrozu	Atipi	Mitotik indeks (mitoz/ 10 BBA)	Tanı
var	Diffüz orta-şiddetli	Herhangi bir sayı	Leiomyosarkom
var	Hafif ya da yok	10'dan fazla	Leiomyosarkom
var	Hafif ya da yok	10'dan az	Leiomyosarkom
yok	Diffüz orta-şiddetli	10'dan fazla	Leiomyosarkom
yok	Diffüz orta-şiddetli	10'dan az	Düşük rekürrens riskine sahip atipik leiomyom
yok	Hafif ya da yok	10'dan az	Leiomyom
yok	Hafif ya da yok	10'dan fazla	Mitotik aktif leiomyom
yok	Fokal orta-şiddetli	15'den az	Sınırlı deneyimin olduğu leiomyom
yok	Fokal orta-şiddetli	15'den fazla	STUMP

2.1.2. Uterin Düz Kas Tümörlerinde Morfolojik Terimlerin Tanımlanması

Diferansiye Hücre Tipi

Düz kas hücreleri normal myometrial hücrelere benzerler. Olağan uterin düz kas hücreleri elonge, eozinofilik, bazen fibriler sitoplazmalı ve belirgin hücre membranına sahip hücrelerdir. Bu hücreler fasiküler düzenlenim gösterme eğilimindedir (14,18).

Epitelioid görünümdeki düz kas hücreleri ise oval ya da poligonal özellikte ve eozinofilik veya soluk sitoplazmalıdır. Perinükleer sitoplazmik vakuollerini ya da perinükleer eozinofilik sitoplazmik zonları vardır. Sitoplazma tümüyle berrak olduğunda, berrak hücre tanımlaması kullanılır (14,18).

Miksoid düz kas proliferasyonlarında, miksoid matriks içinde sitoplazmaları belirsiz yıldızlı hücreler mevcuttur. Malign miksoid düz kas tümörleri farklı derecelerde sitolojik atipi içerirler ve sıklıkla yumuşak dokunun miksoid malign fibröz histiyositomasını andıran görünüme sahiptirler.

Sitolojik Atipi

Çeşitli çalışmalar uterin düz kas tümörlerinde sitolojik atipi ile klinik davranış arasında ilişki olduğunu ortaya koymuştur (15,17,19-21). Burada önemli problem, tekrarlanabilir olacak şekilde önemli sitolojik atipiyi tanımlamaktır. Bell ve arkadaşları (19) 213 uterin düz kas tümörünü içeren çalışmalarında sitolojik atipiyi “önemsiz atipi (atipi yok veya minimal)” ve “önemli atipi (orta ve şiddetli derecede atipi)” olarak 2 grupta incelemişler ve bu gruplamanın araştırmacılar arasındaki uyumu artırdığı ve tekrarlanabilirliği sağladığını vurgulamışlardır. Bu araştırmacılar atipi derecesini değerlendirirken nükleer pleomorfizm, nükleer boyut, nükleer membran düzensizlikleri, kromatin dansitesi ve dağılımı, nükleoler boyut, belirginlik ve konfigürasyonu dikkate almışlardır. Bu çalışmada orta-şiddetli derecede atipi, küçük büyütmeye belirlenebilen nükleer hiperkromazi ve pleomorfizm yanısıra iri, şişkin, elonge nükleus, nükleer konturda düzensizlik, kromatin kabalaşması, nükleolus belirginliği ve anormal bölünme figürlerinin varlığı şeklinde tanımlanmıştır. Orta-şiddetli derecede atipi çoğunlukla diffüz olarak görülürken, fokal de olabilir. Buna karşın atipisiz ya da hafif atipili grup ise uniform hücrelerden oluşmaktadır. Hücrelerde hafif nükleer pleomorfizm ve irileşme bulunabilir. Bir veya ikiden fazla anormal bölünme figürünün görülmesi tümörün orta-şiddetli derecede atipi grubuna dahil edilmesini gerektirir.

Mitotik İndeks

Birbirini takip eden 10 BBA’ndaki toplam mitoz sayısını gösterir (22,23). Küçük büyütmeye ile mitotik olarak en aktif saha bulunup, bu alanda birbirini takip eden 10 büyük büyütmeye sahasındaki mitoz sayısı belirlenir. Sadece gerçek mitotik figürlerin sayılmasına dikkat edilmelidir (14).

Nekroz

Nekrozun görülüp görülmemesi ve tipi klinik davranışın tahmini açısından çok önemli faktörlerdir (19). Uterin düz kas tümörlerinde üç nekroz paterni tanısal olarak önemlidir:

- 1- Koagülatif tümör hücre nekrozu
- 2- Hyalinize nekroz
- 3- Ülseratif nekroz

Koagülatif tümör hücre nekrozunda nekrotik ve korunmuş hücreler arasında ani geçiş mevcuttur. Nekrotik hücrelerin nükleusları sıklıkla hematoksilifik boyanma özelliklerini korurlar. Koagülatif tümör hücre nekrozu klinik olarak malign düz kas neoplazmlarında bulunur ve hiçbir zaman gözardı edilmemesi gerekir.

Hyalinize nekroz ise merkezde nekroz, bunun dışında granülasyon dokusu zonu, çevresinde değişen miktarda hyalin, en dışta da korunmuş düz kas hücrelerinden oluşan zonal patern gösterir. Hyalinizasyon alanında hücre veya nükleus silüetleri seçilebilirse, bunların üniform oldukları görülür.

Nekrozun bir başka paterni ülsera submüköz leiomyomlarda görülebilen ülseratif nekrozdur. Bu nekroz paterni akut inflamatuvar hücreler ve periferik reparatif süreç ile birliktedir (14,18,19).

Tek hücre piknozisi, uterin düz kas tümörlerinin çeşitli tiplerinde görülebilir ve nekroz tanımlamasını gerektirmez (19).

Tümörün Çevre Doku İle İlişkisi

İnfiltratif sınırlar, intravasküler büyüme ve ekstrauterin yayılım sıklıkla uterin malignansilerde görülmekle birlikte, tek başına malignite tanısı için yeterli değildir (18). Benign veya klinik olarak düşük-dereceli süreçler de çevre doku ile ilişkileri açısından leiomyosarkomları taklit edebilirler.

2.1.3. Uterin Düz Kas Tümörlerinin Sınıflandırılması

Tablo 2.2. Uterin Düz Kas Tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Sınıflaması (24).

- 1- Leiomyom
 - Mitotik aktif leiomyom
 - Sellüler leiomyom
 - Hemorajik sellüler leiomyom
 - Atipik leiomyom
 - Epitelioid leiomyom
 - Miksoid leiomyom
 - Vasküler leiomyom
 - Lipoleiomyom
- 2- Malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (STUMP)
- 3- Leiomyosarkom
 - Epitelioid leiomyosarkom
 - Miksoid leiomyosarkom
- 4- Diğer uterin düz kas tümörleri
 - Metastaz yapan leiomyom
 - İntravenöz leiomyomatozis
 - Dissemine peritoneal leiomyomatozis

2.1.4. Olağan Leiomyomlar

Sık rastlanılan uterin neoplazmlardır (25). Çoğu leiomyomlar orta yaştaki kadınlarda görülür. Seyrek olarak 30 yaş altı genç kadınlarda da saptanabilir (26).

Leiomyomların büyümesi hormonal ortamdan etkilenir (27). Leiomyomlar biyokimyasal ve immünohistokimyasal olarak gösterilebilen östrojen ve progesteron reseptörleri içerirler (28). Leiomyomların östrojen tedavisi esnasında boyutlarında artma saptanırken, GnRH agonistleri ile boyutlarında azalma görülür. Progestinler, progesteron, hormon replasman tedavisi, klomifen kullanımı ve gebelik leiomyomlarda bazen hızlı bir büyümeye ve hemorajik dejenerasyona yol açabilir (29).

Klinik Özellikler

Klinik prezantasyonları büyüklüklerine ve lokalizasyonlarına bağlıdır (30). Leiomyomlar ağrı, basınç hissi, anormal uterin kanama gibi semptomlara neden olabilirler. Küçük bile olsalar, submukozal yerleşimli olduklarında, endometrial tabakanın kompresyonu sonucu kanamaya yol açabilirler. Bazı olgularda infertilite leiomyomların varlığı ile ilişkilendirilmektedir. Büyük tümörler uterin büyüme veya düzensiz uterin kontur nedeniyle pelvik muayenede saptanabilirler. Nadir durumlarda, subserozal pedinküllü leiomyomlar torsiyon ve infarksiyon sonucu uterustan ayrılabilirler (18). Leiomyomların sekonder enfeksiyonu ateş, lökositoz ve sedimantasyonda artışa neden olabilir. Leiomyomlar gebelikle birlikte olduklarında spontan abortusa, membranların erken rüptürüne, distosiye, uterin inversiyona ve postpartum hemorajiye yol açabilirler. Subserozal leiomyomlar genellikle asemptomatiktir. Leiomyomlar nadiren polisitemi ile birlikte olabilirler (31). Tümörün eksizyonu ile polisitemi regrese olur.

Makroskopik Özellikler

Histolojik olarak farklı subtipteki leiomyomların hepsinin makroskopik görünümü benzerdir. Leiomyomlar makroskopik olarak, yuvarlak, keskin kenarlı, sert, gri-beyaz kitleler olup, kesit yüzeyleri karakteristik olarak girdap benzeri çizgilenmeler gösterir. Leiomyomlar tek olabilirler, fakat çoğu kez uterus içinde yerleşmiş çok sayıda tümör şeklindedirler. Büyüklükleri küçük tohum tanecikleri boyutundan masif neoplazmlara kadar değişir. Çevre myometriumdaki kolaylıkla ayrılabilen yalancı kapsülleri bulunur (32).

Bazı leiomyomlar çeşitli tipteki dejenerasyonlar nedeniyle bu makroskopik görünümünden sapma gösterebilirler. Çoğu dejenerasyon formları kan, hyalin, kollajen, kalsiyum, mukopolisakkarid ya da bunların kombinasyonlarının kas liflerinin yerini alması ile olur. Bu dejenerasyonlar sonucu leiomyomların kesit yüzeylerinde sarı renk değişikliği, mukoid görünüm, kistik değişiklik ve kanama ortaya çıkabilir.

Leiomyomlar myometriumdaki herhangi bir yerine lokalize olabilirler. Yerleşim yerlerine göre intramural, submüköz ve subseröz olabilirler. Subserozal

lezyonlar nadiren çevre organlara yapışıp kan akımını o bölgelerden sağlayabilirler ve böylece uterusun bağımsız parazitik leiomyomları oluştururlar (32).

Submukozal leiomyomlar sıklıkla ülser ve hemorajik olurlar. Gebelerde ve yüksek doz progesterin tedavisi alanlarda leiomyomlar hızlıca büyüyüp, genişleyerek hemoraji ve nekroz gösterebilirler. Koyu kırmızı alanlar hemoraji alanlarını, iyi sınırlı sarı renkli alanlar ise nekrotik alanları temsil eder. Leiomyomlarda kalsifikasyon da görülebilir (18).

Mikroskopik Özellikler

Leiomyomlar iğsi, üniform görünümdeki düz kas hücre demetlerinden oluşur (32). İğsi hücreler belirsiz sınırları olan, yoğun fibriler eozinofilik sitoplazmalı hücrelerdir. Nükleusları elonge olup, uçları künt olarak sonlanır. Hücreler ince kromatin ağına ve küçük nükleoluslara sahiptir (14). Çoğu leiomyomlar etraf myometriümden daha sellülerdir (18). Mitotik figürler genellikle seyrek. Dejeneratif değişiklikler leiomyomlarda sık olarak görülür. Hyalin fibrozis olguların %60'ından fazlasında ve özellikle de postmenopozal kadınlarda izlenir (33). Leiomyom olgularının %50'sinde ödem, %4'ünde kistik dejenerasyon, %10'unda kanama ve %4'ünde mikrokalsifikasyon görülür. Kanama, ödem, miksoid dejenerasyon, hipersellüler odaklar ve sellüler hipertrofi gebelikte ya da progesterinlerin alınımında görülebilir. Progesteronel ajanlar mitotik aktivitede hafif artışa neden olabilir, fakat bu sayı hiçbir zaman leiomyosarkom seviyelerine ulaşmaz (18). Submüköz leiomyomlar, özellikle de endometrial kaviteye uzandıklarında, sıklıkla akut inflamatuvar hücrelerle birlikte yaygın nekroza neden olabilirler. Ayrıca, nekroza komşu alanlarda mitotik aktivitede artış görülebilir.

Leiomyomlar mikroskopik olarak sınırlı lezyonlardır, ancak bazı olgularda çevre myometriuma uzanımlar olabilir.

İmmünohistokimyasal Özellikler

Leiomyomlarda tümör hücreleri kas-spesifik aktin, alfa-düz kas aktini, desmin, vimentin ve caldesmon ile boyanma gösterirler.

Klinik Davranış ve Tedavi

Leiomyomlar sıklıkla asemptomatiktir ve sadece küçük bir kısmı tedavi gerektirir. Tedavi endikasyonları menoraji, infertilite, fetal kayıp, pelvik ağrı ve tümörde hızlı büyüme olmasıdır (14).

Uterin leiomyomların tedavisi lezyonların boyutu ve sayısına, hastanın yaşına ve çocuk isteğine bağlı olarak değişir. Çoğu asemptomatik leiomyomun eksizyonu gerekli değildir. Semptomatik tümörler histerektomi veya myomektomi ile tedavi edilebilirler. Medikal tedavi GnRH analoglarını içerir. Bu ajanlar leiomyomların boyutunu, muhtemelen iskemik zedelenme ve sellüler atrofi sonucu küçültürler, belirgin pleomorfizm ve artmış mitotik aktiviteye yol açmazlar (34). Diğer bir tedavi yöntemi arteriyel embolizasyondur. Bu tedavi sonucu leiomyomda yaygın nekroz, bazen kalsifikasyon, tromboz ve yabancı cisim tipinde dev hücre reaksiyonu gelişebilir (35).

2.2. Leiomyomların Spesifik Alt Tipleri

2.2.1. Mitotik Aktif Leiomyom

Bu tanımlama 10 BBA'nda 5'den fazla mitotik figür içeren leiomyomlar için kullanılmaktadır. Orta-şiddetli derecede nükleer atipi, anormal mitotik figürler içeren veya tümör hücre nekrozu gösteren tümörler için bu tanı verilmemelidir (18-20,36).

Genellikle mitoz sayısı 10 BBA'nda 5-9 arasındadır, ancak mitoz sayısı 10 BBA'nda 10-20 olarak bildirilen mitotik aktif leiomyomlar da mevcuttur (18). Mitotik aktif leiomyomlar sellüler özellikte olabilirler.

Leiomyomlar, menstrüel siklusun diğer fazlarıyla karşılaştırıldığında, sekresyon fazında belirgin artmış mitotik indekse sahiptirler. Ayrıca progestin tedavisi alanlarda da yüksek mitoz oranı saptanabilir (19,20,36). Submüköz leiomyomlarda da artmış mitotik aktivite gözlenebilir.

Mitotik aktif leiomyomlar klinik olarak benign gidiş gösterirler (18).

2.2.2. Sellüler Leiomyom

DSÖ tanımlamasına göre, sellüler leiomyomlar çevre myometriuma göre belirgin derecede sellülarite gösteren leiomyom tipidir. Sellüler leiomyomlar tümör hücre nekrozu ve orta-şiddetli derecede sitolojik atipi içermezler. Bu tümörlerde az sayıda mitotik figür bulunabilir (19,17,37).

Dar sitoplazmalı küçük hücrelerden oluşan sellüler leiomyomlar endometrial stromal tümörlerle karıştırılabilir. Sellüler leiomyomları stromal tümörlerden ayırdetmeye yarayan özellikler hücrelerin ve nükleusların iğsi şekilde olması, retikülin paternleri ve pleksiform damarlanmanın yokluğudur. Retikülin lifler leiomyomlarda hücre demetlerine paralel olma eğilimindeyken, endometrial stromal tümörlerde hücreleri tek tek çevrelerler (18).

Sellüler leiomyomlar benign davranış gösterirler.

2.2.3. Hemorajik Sellüler Leiomyom

Hemorajik sellüler ya da apoplektik leiomyomlar, oral kontraseptif alan ya da gebe veya postpartum dönemde olan kadınlarda görülen sellüler leiomyom formudur (14,38).

Makroskopik olarak, multifokal yıldızsı kanama alanları görülebilir (18).

Mikroskopik olarak sellülerdir ve yaygın, yama tarzında hemoraji alanları ve ödem içerirler. Nekroz genellikle görülmez. Mitotik figürler kanama alanları etrafındaki granülasyon dokusuna benzeyen alanlarda sayıca hafif artmış olabilir (18). Leiomyosarkomların tersine, atipik mitotik figürler ve belirgin sitolojik atipi göstermezler, çevreden sınırlı tümörlerdir.

GnRH agonistlerinin de benzer değişikliklere yol açtıkları bildirilmiş olmakla birlikte, bazı araştırmacılar bunu doğrulamamışlardır (39,40).

2.2.4. Atipik Leiomyom

Orta-şiddetli derecede atipi gösteren leiomyomlar atipik leiomyom olarak isimlendirilirler. Atipik leiomyom tanısı için, mitotik figürlerin 10 BBA'nda 10'u aşmaması ve tümör hücre nekrozunun bulunmaması gereklidir. Atipik hücreler tümör içerisinde yaygın ya da fokal olarak bulunabilir. Hücrelerin büyük hiperkromatik

nükleusları, belirgin kromatin kümelenmeleri, geniş sitoplazmik psödonükleer inklüzyonları sıklıkla mevcuttur.

Çok sayıda multinükleer tümör dev hücresi olabilir, bu durumda simplastik leiomyom terimi kullanılır. Bu tür değişiklikler progestin kullanımı olan olgularda bildirilmiştir (41).

Atipik leiomyom tanısı düşünülen olgularda, leiomyosarkom tanısını ekarte etmek için, çok sayıda örnekleme yapmak gerekmektedir. Çünkü leiomyosarkomlar hipersellülarite, sitolojik atipi ve artmış mitotik aktivite göstermeyen alanlar içerebilir.

Atipik leiomyom tanısı düşünüldüğünde, yaş mutlaka dikkate alınmalıdır. Postmenopozal kadınlarda atipik leiomyomlar daha az oranda görülür (18). Atipik hücreler içeren bir düz kas tümörü yaşlı bir kadında saptandığında, leiomyosarkomun diğer özelliklerinin dikkatle araştırılması gerekir.

Downes ve Hart (42) 24 atipik leiomyom olgusunu içeren çalışmalarında, postoperatif ortalama 11.2 yıllık izlem süresi boyunca, myomektomi ile tedavi edilmiş olanlar da dahil, olguların tamamının benign klinik gidiş gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada mitotik aktivite genellikle düşük (ortalama 1.6/10 BBA), atipik hücrelerin dağılımı olguların 1/3'ünde mültofokal, 1/2'sinde diffüz olarak saptanmış olup, hiç bir olguda koagülatif tümör hücre nekrozu görülmemiştir. Bell ve ark. (19)'nın serisinde, en az 2 yıllık izlemi olan 46 olgudan 1'inin (%2.1) klinik olarak malign davranış gösterdiği gözlenmiştir. Bu araştırmacılar, orta-şiddetli derecede atipi gösteren, mitotik indeksin <10/10 BBA olduğu ve koagülatif tümör nekrozunun izlenmediği bu olgu grubunu "düşük rekürrens riski taşıyan atipik leiomyomlar" olarak kabul etmişlerdir.

2.2.5. Epitelioid Leiomyom

Tanım olarak, epitelioid leiomyomlar, yuvarlak veya poligonal, epitelyal görünümde hücrelerden oluşan, 10 BBA'nda 5'ten az mitoz içeren, atipinin hafif derecede olabildiği ve koagülatif tümör hücre nekrozu içermeyen tümörlerdir (15). Bu kategoride leiomyoblastom, berrak hücreli leiomyom ve pleksiform leiomyom yer almaktadır (43). Uterin epitelioid düz kas tümörleri vücudun diğer bölgelerindekilerle aynı histolojik görünümüne sahiptir.

Makroskopik olarak, sarı ya da gri görünümlüdür ve kanama alanları içerebilir. Olağan leiomyomlardan daha yumuşak kıvamdadır. Çoğu soliter olup, ortalama çapları 6-7 cm dir.

Mikroskopik olarak, hücreler yuvarlak ya da poligonal özelliktedir. Hücreler kümeler ve kordlar yaparlar. Yuvarlak nükleusları sıklıkla sitoplazmanın periferinde yerleşim gösterir (44). Leiomyoblastomlar eozinofilik sitoplazmalı yuvarlak hücrelerden oluşurlar. Berrak hücreli leiomyomlarda hücreler poligonal olup, geniş, berrak sitoplazmalıdır ve belirgin hücre membranına sahiptir. Pleksiform leiomyomlar dar veya orta miktarda sitoplazmaya sahip yuvarlak hücrelerin oluşturduğu kordlar ya da yuvalanmalardan meydana gelirler.

Sadece mikroskopik incelemede saptanabilen küçük pleksiform leiomyomlar “pleksiform tümörlet” olarak isimlendirilirler. Pleksiform tümörletler genellikle solid ve submukozal yerleşimlidir.

Epitelioid leiomyomların klinik davranışlarının tahmini zordur (18). Sitolojik atipi, tümör hücre nekrozu ve artmış mitotik aktivite göstermeyen küçük tümörler benign olarak kabul edilebilirler. Pleksiform tümörletler daima benign davranış gösterirler (45). Kurman ve Norris (43) 26 olguluk serilerinde baskın olarak berrak hücrelerden oluşan, yaygın hyalinizasyon gösteren iyi sınırlı epitelioid leiomyomların genellikle benign davranış gösterdiklerini ortaya koymuşlardır. Büyük boyut (6 cm'den büyük), orta derecede mitotik aktivite (2-4 mitoz/10 BBA), orta-şiddetli derecede sitolojik atipi ve nekroz gibi özelliklerden iki veya daha fazlasını içeren epitelioid leiomyomların davranışı net olarak ortaya konulamamıştır. Orta-şiddetli derecede atipi içeren, mitotik indeksi 5'in altında olan ve nekroz içermeyen tümörler “malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (STUMP)” olarak sınıflandırılmalıdır. Mitotik aktivitesi 10 BBA'nda 5 ve üzerinde olan tümörler epitelioid leiomyosarkom olarak değerlendirilmelidir, çünkü bu özellikteki tümörlerin önemli bir bölümü metastaz yaparlar. Tümör hücre nekrozu içeren tüm epitelioid düz kas tümörleri maligndirler. Malign epitelioid düz kas tümörlerinin çoğu leiomyoblastom tipindedir, ancak berrak hücreli leiomyosarkom olguları da bildirilmiştir (46).

Epitelioid leiomyomları karsinomlardan ayırdetmek bazen zor olabilmektedir. Epitelioid leiomyomların hücreleri, karsinomlardan farklı olarak gland yapısı oluşturmazlar, sitolojik atipi ve artmış mitotik aktivite içermezler.

2.2.6. Miksoid Leiomyom

Miksoid leiomyomlar yumuşak ve şeffaf görünümlü tümörlerdir.

Mikroskopik olarak, düz kas hücreleri arasında bol amorf miksoid materyal mevcuttur. İyi sınırlıdırlar, sitolojik atipi ve mitoz içermezler. Bu tanı için, hücrelerin küçük ve uniform olması, atipinin bulunmaması veya hafif olması, 10 BBA’nda mitoz sayısının 2’nin altında saptanması gerekir (18). Büyük miksoid düz kas tümörleri ile infiltratif sınırlara, sitolojik atipi veya mitotik aktiviteye sahip tümörlere şüphe ile yaklaşılmalıdır. Büyük ve atipik hücrelerle birlikte miksoid diferansiyasyon kötü bir bulgudur. Benign ve malign miksoid tümörleri birbirinden ayıran en önemli özellikler tümör sınırının natürü ve vasküler invazyonun olup olmamasıdır (47).

2.2.7. Vasküler Leiomyom

Artmış sayıda, geniş çaplı ve müküler duvarlı damar yapılarını içeren leiomyomlardır. Vasküler komponent baskın olduğunda hemanjiomdan ya da arteriovenöz malformasyonlardan ayırımları zordur.

Vasküler leiomyomlar iyi sınırlı neoplazmlardır ve tipik iğsi düz kas hücrelerinin izlendiği odaklar içerirler.

2.2.8. Lipoleiomyom

Tipik leiomyomlar dağınık olarak az miktarda adiposit içerebilirler. Belirgin derecede adiposit içeren leiomyomlar “lipoleiomyom” olarak adlandırılırlar. Adipositler genellikle sınırlı alanlar halinde bulunurken, bazen diffüz de olabilirler.

Lipoleiomyomlar seyrek görülen uterin tümörlerdir. Bir seride, uterin myomatöz tümörler içindeki sıklıkları %0.35 olarak bildirilmiştir (48). Lipoleiomyomlar benign davranış gösteren tümörlerdir.

2.2.9. Nörilemmoma-Benzeri Leiomyom

Bir kısmı nörilemmoma-benzeri nükleer palizadlaşma gösteren iğsi düz kas hücrelerinden meydana gelen uterin tümörlerdir.

Nörilemmoma-benzeri leiomyomlar benign tümörlerdir.

2.3 Alışılmışın Dışında Büyüme Paternine Sahip Leiomyomlar

2.3.1. Diffüz Leiomyomatozis ve Myometrial Hipertrofi

Diffüz leiomyomatozis az rastlanılan bir durumdur ve uterusu simetrik olarak büyüten sayılamayacak kadar çok sayıda küçük düz kas nodüllerinin varlığı ile karakterizedir. Uterus ağırlığı 1000 gr'a ulaşabilir. Düz kas nodülleri mikroskopik boyuttan 3 cm çapa kadar değişebilir, fakat çoğunlukla 1 cm'nin altındadır (18). Nodüller üniform iğsi düz kas hücrelerinden oluşur, ancak tipik leiomyomlara göre daha az sınırlı lezyonlardır. Nodüllerin merkezinde, hyalinize stroma içerisinde kapiller damar kümeleri mevcuttur (47). Hastalar anormal kanama ve alt abdominal ağrı ile prezante olurlar. Benign lezyonlardır, ancak klinik gidişleri kanama ile komplike olabilir (49).

Myometrial hipertrofide myometrium kalınlaşmış ve uterus simetrik olarak büyümüştür. Spesifik makroskopik ve mikroskopik anormallik yoktur, sadece boyut olarak normalin dışındadır (18). Düz kas demetleri kalınlaşmıştır. Bu demetler arasında fibröz doku depolanması yoktur (44).

2.3.2. Dissekan Leiomyom

Dissekan leiomyom çevre myometriuma doğru dil şeklinde uzantılar oluşturan benign düz kas proliferasyonlarına verilen isimdir. Bu infiltrasyon paterni aynı zamanda intravenöz leiomyomatoziste de görülebilir.

2.3.3. İntravenöz Leiomyomatozis ve Vasküler İnvazyon Gösteren Leiomyom

İntravenöz leiomyomatozis, myometrial damarlar içine büyüyen, histolojik olarak benign düz kas hücrelerinden oluşan nodüler kitlelerin bulunması ile karakterizedir. İntravenöz leiomyomatozis 27-80 yaşlar arasındaki kadınlarda

bildirilmiştir (ortalama yaş: 44) (50). Klinik semptomları anormal kanama ve pelvik rahatsızlıktır. Makroskopik olarak, intravenöz leiomyomatozis myometrium içinde kıvrıntılı veya nodüler büyümeler şeklinde görülür. Broad ligamentteki uterin venlere veya diğer pelvik venlere uzanımlar gösterebilir. Olguların %10'undan fazlasında vena kavaya ve bunların bir kısmında kalbe uzanım bildirilmiştir (51,52). Kitlelerin kesit yüzeyleri yumuşak kıvamda, pembe beyaz ya da gri renkte olup, harelidir (18). Tanı nadiren cerrahi öncesi konulabilmekte olup, çoğunlukla intraoperatif olarak pelvik venlerin içinde nodüler veya solucan benzeri tıkaçların görülmesiyle tanıya ulaşılmaktadır (47). Diğer olgularda ise tanı ancak patolojik inceleme ile konulabilmektedir.

Mikroskopik olarak tümör endotel ile döşeli venöz kanalların içinde bulunur. Arterler tutulmazlar. Bazı olgularda hücresele kompozisyonları leiomyomlar gibidir, fakat çoğu belirgin bir fibrozis ya da hiyalinizasyon zonları içerir (18). Düz kas hücreleri belirgin olmayıp, ayırdedilmeleri zor olabilir. İntravasküler tümörün kendisi de yüksek oranda vaskülerdir ve bazı olgular vasküler tümöre benzerler.

İntravenöz leiomyomatozis bazen vasküler düz kastan kaynaklanabilir. Bu durumda tümör baskın olarak veya tümüyle intravaskülerdir. Diğer örneklerde leiomyomun intravasküler uzanımı ile gelişir ve tümörün büyük bir kısmı ekstravaskülerdir.

Sellüler intravenöz leiomyomatozisin düşük dereceli endometrial stromal sarkomdan ayrımı zor olabilir, ancak çok sayıda örnekleme ile tipik düz kas diferansiyasyon alanları sıklıkla ortaya konabilir. Endometrial stromal sarkomlar tipik olarak endometrial tutulum ve yaygın ekstravasküler myometrial permeasyon gösterirler (52). Endometrial stromal sarkomlar ayrıca diffüz paternde büyüme gösteren endometrial stromal hücrelerin monotonöz popülasyonu ile karakterizedir, ince duvarlı küçük damarlar sıktır ve çok sayıda mitoz mevcuttur. Buna karşın intravenöz leiomyomatoziste endometrial tutulum görülmez ve tümör kalın duvarlı damarlar içerir.

Tedavi total abdominal histerektomi, bilateral salpingooforektomi ile birlikte ekstrauterin uzanımların eksizyonudur. İntravenöz leiomyomatozis, inkomplet eksizyon durumunda bile iyi prognoza sahiptir. Pelvik rekürrens seyrekir.

2.3.4. Benign Metastaz Yapan Leiomyom

Akciğer, lenf nodları veya karındaki metastatik düz kas tümör depozitlerinin uterustaki benign leiomyomdan kaynaklandığı olgular için kullanılan terimdir (14). Ekstrauterin depozitler orijinal tümörde olduğu gibi masum görünüşlü olabileceği gibi, leiomyosarkom veya malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (STUMP) özelliğinde olabilir (53). Histerektomi ile akciğer nodüllerinin ortaya çıkması arasındaki interval ortalama 15 yıldır (54).

Benign metastaz yapan leiomyomların hemen tümü bayanlarda görülür ve çoğunluğunun öyküsünde pelvik cerrahi bulunur (18). Hastalar konvansiyonel leiomyosarkom olgularına göre daha gençtir ve klinik gidiş çok daha iyidir (55).

2.3.5. Peritoneal Leiomyom (Parazitik Leiomyom)

Leiomyomlar uterin serozal yüzeylerde yer alabilirler ve bazılarının pedinkülleri bulunabilir. Seyrek olarak bu leiomyomlar başlangıçtaki subserozal yerleşim yerlerinden ayrılıp, broad ligament, cul-de-sac, pelvik periton ve omentum gibi diğer bazı pelvik alanlara tutunabilirler (14).

2.3.6. Dissemine Peritoneal Leiomyomatozis

Dissemine peritoneal leiomyomatozis nadir bir durum olup, doğurganlık çağındaki kadınlarda abdominal kavite ve pelvis peritoneal yüzeylerinde düz kas, myofibroblastik ve fibroblastik özellikte multipl nodüllerin varlığı ile karakterizedir (56).

Çoğu olgu gebelik, granüloza hücreli tümör veya oral kontraseptif kullanımı ile birlikte (56). Sıklıkla sezaryen operasyonu sırasında insidental olarak saptanır. Dissemine peritoneal leiomyomatozis pelvik ve abdominal peritonda, uterus, adneksler, barsaklar ve omentum yüzeyinde küçük, granüler, beyaz nodüller şeklinde görülür. Nodüller küçüktür (genellikle 2 cm'den küçük). Mikroskopik olarak nodüller kollajen, fibroblastlar, myofibroblastlar ve düz kas hücreleri ile gebelik ya da postpartum dönemde desidual hücrelerden oluşur. İğsi hücreler genellikle baskındır ve metastatik leiomyosarkom ile karışabilir (18). Ancak, metastatik

leiomyosarkomlarda depozitler genellikle 2 cm'den büyüktür ve mitotik aktivite artışı, belirgin sitolojik atipi ve sıklıkla tümör hücre nekrozu mevcuttur (15).

Dissemine peritoneal leiomyomatozis olgularında biyokimyasal veya immünohistokimyasal yöntemlerle östrojen ve progesteron reseptörleri gösterilebilir (57). Dissemine peritoneal leiomyomatozis hormonal uyarının ortadan kalkması ile genellikle regrese olur veya statik kalır.

2.4. Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü (STUMP)

Bu terim histolojik özelliklerden yola çıkarak klinik gidişin güvenilir bir şekilde tahmin edilemediği olgular için kullanılmaktadır. Spesifik bir tanı kategorisi değildir. Bu terimin kullanıldığı durumlar şunlardır (18);

1. Diferansiye tip hakkında eldeki klinikopatolojik verilerin az olduğu ve her ne nedenle olursa olsun, tümörün benign olmayabileceği ihtimali olduğunda (tümör hücre nekrozu içermeyen, orta derecede atipi bulunan ve orta derecede artmış mitotik indekse sahip miksoid ve epitelioid tümörler)
2. Tümörün düz kas diferansiyasyonunun tipi hakkında belirsizlik olduğunda (klinik davranışın tahmininde farklılığa yol açabilir)
3. Mitotik indeks hakkında belirsizlik olduğunda (klinik davranışın tahmininde farklılığa yol açabilir): Bu durum sıklıkla standart düz kas diferansiyasyonu olan, tümör hücre nekrozu içermeyen, orta-şiddetli derecede atipi bulunan ve 10 BBA'nda mitoz sayısı 10'a yakın olan olgularda, anormal mitotik figür ya da büzüşmüş karyorektik nükleuslara ait olabilecek yapıların bulunduğu geçerlidir. Bu yapıların mitotik figür kabul edilmesi durumunda olgu leiomyosarkom, karyorektik nükleus olarak değerlendirilmesi durumunda atipik leiomyom tanısı olacaktır.
4. Tümör hücre nekrozunun varlığı hakkında belirsizlik olduğunda: Bazen hyalin/infarksiyon nekrozu ile tümör hücre nekrozunun ayırımı zordur. Yaygın tek hücre nekrozu veya erken dönem infarksiyon ya da tümör hücre nekrozunu temsil edebilen patern gözlenebilir.

2.5. Leiomyosarkom

Leiomyosarkomlar uterin malignansilerin %1,3'ünü, uterin sarkomların ise 1/3'ünü oluştururlar (18). Uterusun her 800 düz kas tümöründen yaklaşık 1'i leiomyosarkomdur.

2.5.1. Klinik Özellikler

Leiomyosarkomlu hastaların ortalama yaşı 52 olup, leiomyosarkomlar leiomyomlara göre yaklaşık bir dekad daha yaşlı kadınlarda görülmektedir. Klinik prezantasyon nonspesifiktir. Başlıca semptomları anormal vajinal kanama, alt abdominal ağrı, pelvik ya da abdominal kitledir. Semptomların tanıdan önce başlama süresi ortalama 5 aydır (21). Mikst Müllerian tümörlerin tersine, leiomyosarkomlar seyrek olarak pelvik radyasyon hikayesi ile birliktelik gösterir (58).

2.5.2. Makroskopik Özellikler

Leiomyosarkomların çoğu intramuraldir, yaklaşık %50-75'i soliter kitle şeklindedir (18). Makroskopik olarak leiomyosarkomlar leiomyomlardan daha büyük ve yumuşaktırlar, kesit yüzeyleri gri sarı ya da pembedir, nekroz ve hemoraji alanları içerebilirler. Wu ve ark. (59)'nın 51 olguluk serilerinde ortalama tümör çapı 8 cm (2-20 cm) olarak bulunmuştur. Leiomyosarkomlar irregüler sınırlı tümörlerdir (**Tablo 2.3**).

Tablo 2.3. Leiomyom ve Leiomyosarkomların Makroskopik Görünümlerinin Karşılaştırılması.

Leiomyom	Leiomyosarkom
Genellikle multipl	Genellikle soliter (%50-75)
Farklı boyutlarda, genellikle 3-5cm çapında	Büyük, sıklıkla >10 cm
Sert, hareli kesit yüzeyi	Yumuşak, etsi kesit yüzeyi
Beyaz	Sarı ya da ten rengi
Kanama ve nekroz (infarksiyon) sık değil	Kanama ve nekroz (koagülatif) sık

2.5.3. Mikroskopik Özellikler

Mikroskopik olarak, leiomyosarkomlar bol, eozinofilik sitoplazmalı iğsi hücre fasiküllerinden oluşurlar. Leiomyosarkom tanısı için kullanılan başlıca kriterler nükleer atipinin varlığı, yüksek mitotik indeks ve koagülatif tümör hücre nekrozudur. Nükleuslar füziform ve hiperkromatik olup, kaba kromatin ağı ve belirgin nükleoluslara sahiptirler (18). Kötü diferansiye tümörlerde belirgin hücresel pleomorfizm vardır. Multinükleer tümör hücreleri leiomyosarkom olgularının %50'sinde bulunur. Çoğu leiomyosarkom çevre myometriumu invaze eder. Vasküler invazyon leiomyosarkomların %10-22'sinde bildirilmiştir (3,17,60). Tümör hücre nekrozu tipik olarak belirgindir, fakat görülmesi şart değildir.

Miksoid leiomyosarkomlarda düz kas hücreleri arasında miksoid materyal mevcuttur. Bu nedenle bu tümörler düşük sellülarite gösterirler. Bu tümörlerdeki düşük mitotik aktivitenin de kısmen düşük sellülariteden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Bazı olgularda ise yüksek mitotik aktivite ve belirgin nükleer atipi bulunabilir. Miksoid leiomyosarkomlar infiltratif sınırlara sahiptirler. Miksoid özellikteki düz kas tümörlerine şüphe ile bakılmalıdır. Miksoid leiomyosarkomlardaki miksoid diferansiyasyonu dejenere leiomyomlardaki hidropik değişiklikten ayırdetmek çok önemlidir. Bu ayırmda önemli özellikler miksoid leiomyosarkomlarda görülen infiltratif büyüme, yaygın miksoid değişiklik ve bir derecede nükleer büyüme ve pleomorfizmdir. Miksoid leiomyosarkomların inflamatuvar myofibroblastik tümörlerden de ayırdedilmesi gerekir. Miksoid leiomyosarkomlarda stromanın miksoid olması yanısıra hücreler iri, hiperkromatik ve pleomorfiktir.

Epitelioid leiomyosarkomlar konvansiyonel leiomyosarkomların bilinen bulguları (sitolojik atipi, tümör hücre nekrozu ve yüksek mitotik aktivite) yanısıra epitelioid diferansiyasyon gösteren tümörlerdir. Bu tümörlerde hücreler poligonal özelliktedir ve fasiküller oluşturmak yerine kordlar veya geniş gruplar meydana getirirler.

2.5.4. Klinik Davranış ve Tedavi

Çoğu leiomyosarkom başvuru anında uterusu sınırlıdır. Ekstrauterin hastalık mevcutsa sıklıkla akciğer tutulumu şeklindedir (61). Leiomyosarkomlar

intraperitoneal yayılım gösterebilecekleri gibi, bölgesel lenf nodlarına ve hematojen yolla akciğerler, karaciğer, beyin, böbrekler ve kemiğe yayılabilirler. Leiomyosarkomlar oldukça malign neoplazmlardır, sağkalım oranı karsinosarkomlara göre daha kötüdür (60).

Postmenopozal kadınlarda, erken evre leiomyosarkomlarda primer tedavi total abdominal histerektomi ve bilateral salpingooforektomidir. Premenopozal kadınlarda tedavi tartışmalıdır. Klinik olarak erken evre olgularda over metastazı nadirdir. Ayrıca, ooforektominin tedavi sonuçlarını etkilediği yönünde bir kanıt bulunmamaktadır (62,63). Bu nedenlerle premenopozal kadınlarda overler korunabilir.

Leiomyosarkomların tedavisinde radyoterapinin etkinliği konusunda literatürde çelişkili sonuçlar mevcuttur. İki farklı seride radyoterapinin etkili olmadığı bildirilirken (62,64), bir başka seride tek başına cerrahi uygulanan erken evre leiomyosarkom olgularına göre kombine radyasyon ve cerrahi ile tedavi edilen erken evre olguların daha düşük rekürrens gösterdikleri rapor edilmiştir (60). Rekürren veya metastatik leiomyosarkomların tedavisi çok zordur. Hastaların çok küçük bir kısmı doksorubisin kemoterapisine cevap vermektedir.

Bildirilen sağkalım oranlarındaki belirgin farklılıklar büyük oranda tanı için farklı kriterlerin kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Günümüzdeki kriterlerin kullanıldığı serilerde 5 yıllık genel sağkalım oranı %15-25 olarak bildirilmektedir (18). Sadece evre I ve II tümörler değerlendirmeye alındığında, 5 yıllık sağkalım oranı %40-70 olarak kabul edilmektedir. Rekürrenslerin çoğu ilk 2 yıl içinde ortaya çıkmaktadır.

2.5.5. Leiomyosarkomlarda Prognostik Faktörler

Evre: Leiomyosarkomlarda en önemli prognostik faktör evredir (10,21,65-68). Larson ve ark (21)'nin 143 leiomyosarkom olgusunu içeren serilerinde 5 yıllık sağkalım oranı evre I olgular için %39, evre II olgular için %18, evre III olgular için %7 olarak saptanmıştır. Bu seride evre IV olguların tamamında ilk 2 yıl içinde ölüm görülmüştür.

Tümör boyutu: Evre I tümörler için bazı araştırmacılar tümör boyutunun önemli bir prognostik faktör olduğunu saptamışlardır. Evans ve ark. (69) 5 cm'den

büyük tümöre sahip tüm hastaların, buna karşın 5 cm'den küçük tümörü olan 8 hastadan sadece 3'ünün hastalıktan öldüğünü bildirmişlerdir. Bir başka seride, metastaz yapan leiomyosarkomlardan sadece %20'sinin 5 cm'den küçük olduğu rapor edilmiştir (70).

Yaş: Bazı serilerde premenopozal kadınların daha iyi bir gidişe sahip oldukları bildirilirken (21,66,71), diğer serilerde bu bulgu desteklenmemiştir (10,72-74).

Mitotik indeks: Çok sayıda çalışmada mitotik indeksin prognostik öneme sahip olduğu bildirilmiştir (21,66,68,71,75). Jinekolojik Onkoloji Grubu'nun 59 leiomyosarkom olgusunu içeren çalışmasında mitotik indeksin düşük evre hastalarda prognostik öneme sahip tek parametre olduğu gösterilmiştir (75). Başka bir çalışmada, 10 BBA'nda 10'dan az mitoz gözlenen olgularda 5 yıllık sağkalım oranı %65 olarak saptanırken, bu oran 10 BBA'nda 10 ve üzeri mitoz içeren olgularda %17 olarak gözlenmiştir (21). Buna karşın Akhan ve ark. (10) mitoz sayısı ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır.

Grade: Pautier ve ark. (76) yumuşak doku neoplazmları için kullanılan grade'leme şemasının, uterin sarkomlara uygulandığında prognostik öneme sahip olmadığını ortaya koymuşlardır. Wu ve ark. (71)'nin çalışmasında ise düşük grade'in azalmış rekürrens ve ölüm riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Vasküler invazyon: Çeşitli çalışmalarda vasküler invazyon yokluğu iyi prognozla ilişkili olarak bulunmuştur (68,72). Nordal ve ark. (77) ise 70 olguluk serilerinde vasküler tutulum ile genel sağkalım arasında bir korelasyon olmadığını bildirmişlerdir.

İnfiltratif sınır: İnfiltratif sınıra sahip tümörlerin, ekspansil büyüyen tümörlere göre daha kötü prognozu beraberinde getirdiği bildirilmiştir (21).

Östrojen ve progesteron reseptör: Akhan ve ark. (10) %10 üzerinde steroid reseptör ekspresyonunun sağkalım üzerine olumlu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Sutton ve ark. (78)'nin 39 olguluk serisinde, tanı ardından 1 yıldan fazla yaşayan leiomyosarkomlu hastalarda progesteron ve östrojen reseptör pozitifliğinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Buna karşın diğer çalışmalarda progesteron ve östrojen reseptör ekspresyonunun genel ve hastalısız sağkalım üzerine etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (5,79,80).

P53 ekspresyonu: Layfield ve ark. (12) p53 ekspresyonu ile prognoz arasında ilişki olduğunu vurgularken, bazı çalışmalarda ise p53 düzeyinin sağkalım üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir (35, 70).

Ki-67 ekspresyonu: Akhan ve ark. (10) 24 leiomyosarkom olgusunu içeren serilerinde Ki-67 indeksi ortanca değer olan 30'un altında olan olguların sağkalım oranlarının anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır. Mayerhofer ve ark. (72) da artmış Ki-67 ekspresyonunun tümörün hızlı büyümesi ve kötü prognozla korele olduğunu ortaya koymuşlardır. Zhai ve ark. (5)'nin çalışmasında ise leiomyosarkom olgularında Ki-67 indeksinin genel sağkalım açısından anlamlı bir prognostik parametre olmadığı bildirilmiştir.

DNA ploidi: Akım sitometrisi ile belirlenen DNA ploidinın prognostik öneme sahip olabileceği bildirilmiştir (81,82).

2.6. Hücre Siklusu ve Hücre Siklusunun Düzenlenmesi

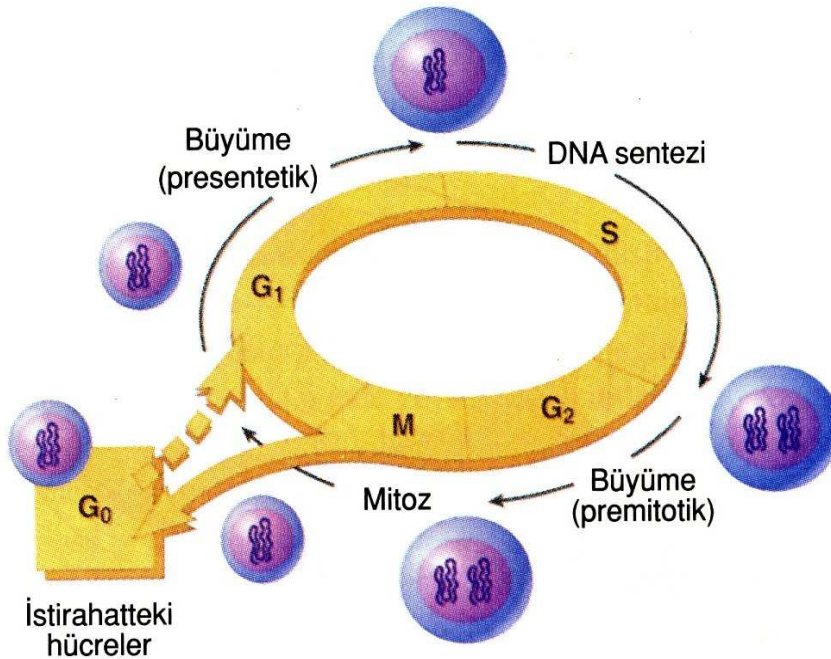
Hücre siklusu her hücre genomunun düzenli replikasyonunu ve iki kardeş hücreye bölünmesini sağlayan tek yönlü bir olaydır. Hücre siklusu, hücrelerin büyüme ve proliferasyonu, organizmal gelişme, DNA hasarı onarımının regülasyonu ve zedelenmeye cevap olarak doku hiperplazisi ve kanser gibi durumlarda etkili olan kompleks bir olaydır.

Genelde bir dokudaki hücre sayısı popülasyona yeni giren ve çıkan hücrelerle belirlenir. Dokudaki popülasyona giren hücreler büyük ölçüde proliferasyon hızını belirler. Hücre ölümü ya da diğer hücre tipine diferansiye olan hücreler, topluluktan çıkan hücrelerdir. Hücre proliferasyonu intrinsek büyüme faktörleri, zedelenme, hücre ölümü veya dokunun mekanik deformasyonu ile uyarılabilir. Lokal mikroçevrede bulunan biyokimyasal mediatörler ve/veya mekanik baskılar hücre büyümesini hem uyarıp, hem de inhibe edebilirler. Böylece stimülatör fazlalığı veya inhibitör azlığı hücre büyümesini etkiler. Her ne kadar büyüme, hücre siklus süresinin kısılması ya da hücre kaybı hızının azalmasına bağlıysa da, en önemli regülatör kontrol, istirahattaki hücrelerin (G0) hücre siklusuna girmesinin uyarılmasıdır.

Lokal çevreden gelen çeşitli sinyallerin yalnızca hücre proliferasyon hızını değiştirmedeği, aynı zamanda onların diferansiyasyon ve sentez kapasitesini de etkilediği bilinmektedir (32).

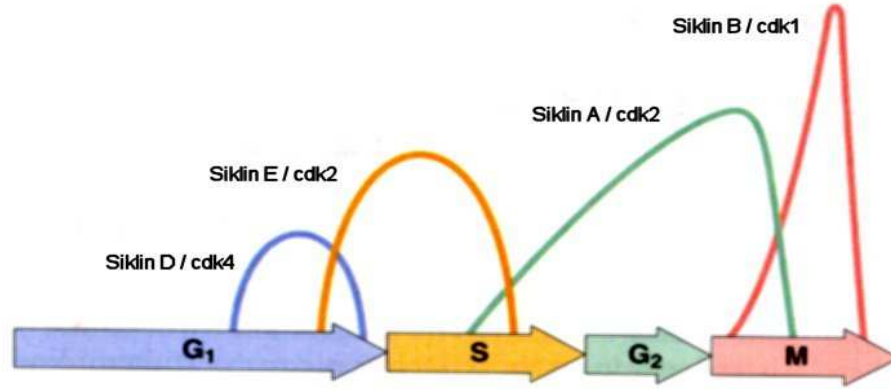
Hücre siklusu dört ana fazdan oluşmaktadır: Presentetik büyüme fazı G₁, siklustaki somatik hücrelerde kromozomların replike olduğu sentez fazı S, premitotik büyüme fazı G₂, mitotik faz M (Şekil 2.1). Hücreler G₀ olarak adlandırılan fazda ise istirahat halindedir. M fazı farklı evrelerden oluşur (profaz, metafaz, telofaz, anafaz) (83).

G₁ fazı çeşitli büyüme faktörleri ile kontrol edilir. G₁ fazında hücre DNA sentezi için hazırlanır. Hücre normal gelişimini gösterdiğinde, S fazına girer. Bu fazda DNA sentezi gerçekleşir ve hücre genomu duplike olur. DNA duplikasyonu ardından G₂ fazı başlar. G₂ fazında hücre mitoz için hazırlanır. Daha sonraki faz M fazıdır. Bu fazda hücre bölünmesi gerçekleşir. Normal hücresel bölünmenin her siklusunun bitiminde fonksiyonel olarak bağımsız iki hücre meydana gelir (84).



Şekil 2.1. Hücre Siklusunun Şematik Görünümü.

Değişik hücre siklus fazlarına progresyon siklinler ve siklin bağımlı kinazlar (CDK) olarak bilinen protein kinazlarla kontrol edilir (**Şekil 2.2**). Siklinler belirlenmiş hücre siklus anında sentezlenen ve ardından hızla parçalanan bir protein ailesidir.



Şekil 2.2. Siklinlerin Hücre Siklusunda Sentez Aşamaları.

Siklin bağımlı kinazlar ise hücre siklus regülatör proteinleridir ve sadece siklinlere bağlandıklarında aktive olurlar (85). Siklin bağımlı kinazlar hücre siklusunun ilerlemesinde kritik role sahiptirler. Bunların inaktivasyonu mitozun engellenmesiyle sonuçlanır. Siklin ailesi A'dan H'ye kadar harflerle belirlenen 8 ana sınıftan oluşur. Siklin ve CDK'ların değişik kombinasyonları hücre siklusundaki önemli geçişler ile birlikte.

Siklin bağımlı kinazlar çeşitli metodlarla regüle olur ki bunlardan biri treonin ve tirozin rezidülerinde fosforilasyondur. Siklin bağımlı kinaz 1 (CDK1) hem inhibitör hem de stimülatör olan fosforilasyon alanlarına sahiptir. Siklin bağımlı kinaz 1 (CDK1) siklin A ve B ile bağlandıktan sonra aktive olur ve G2 fazının oluşumunda, G2-M fazı geçişinde ve M fazı oluşumunda anahtar role sahip olduğu kabul edilmektedir. Siklin bağımlı kinaz 2 (CDK2) S fazında siklin A ile aktive olur, ilk başlama noktasından geçişte ve S fazının ilerlemesinde rol oynar. Siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4) ve siklin bağımlı kinaz 6 (CDK6) siklin D1, D2 ve D ile kompleks oluşturur. Bu kompleksler G1 fazında en yüksek sentez ve aktivitelerini gösterirler ve G1 fazını kontrol ederler. Siklin bağımlı kinaz 5 (CDK5) S fazında henüz net olarak bilinmeyen bir role sahiptir. Siklin bağımlı kinaz 3 (CDK3) muhtemelen G1-S geçişinde rol oynamaktadır. Siklin bağımlı kinaz 7 (CDK7)'nin rolü net olarak

tanımlanamamıştır, ancak muhtemelen tüm siklus boyunca etki gösterdiği düşünülmektedir (84).

Sentez ve degradasyona ek olarak, aktif CDK kompleksleri CDK inhibitörleri (p21 ve p27 gibi), diğer kinazlar ve fosfatazlara bağlanarak regüle olurlar. İnhibitörler hücre siklusunu CDK'ların aktivitesini dengeleyerek kontrol ederler. Bu karşıt sinyallerin etkileşimi hücrenin sıklusta ilerlemesini belirler. Bazı tümörlerde veya yaşlanan hücrelerde olduğu gibi bu inhibitörlerin seviyesindeki değişiklikler hücre siklusunun normal ilerlemesini değiştirebilir (32).

Hücre siklusunda kontrolün 2 ana noktası $G1 \rightarrow S$ ve $G2 \rightarrow M$ kontrol noktalarıdır. Bu kontrol noktaları pozitif ve negatif regülatör elemanların kaskadı ile düzenlenir. Kısaca anlatılacak olursa, intrasellüler ve ekstrasellüler sinyaller (hipoksi ve DNA hasarı gibi) CDK inhibitörlerini [CDKN1A (p21) ve CDKN2A (p16) gibi] aktive eder. Ardından CDK inhibitörleri siklinleri inhibe ederek hücre siklus progresyonunu bloke eder. Böylece siklinler normal fonksiyonları olan DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi için kritik olan protein aktivasyonunu gerçekleştiremezler.

G1 → S Kontrol Noktası:

Hücre, G1'den S fazına progrese olduğunda;

- 1) Organizmadan hücrenin bölünmesi gerektiğine dair sinyal almalıdır.
- 2) Uygun çevrede (besin ve oksijenden zengin) bulunuyor olmalıdır.
- 3) DNA'sı mutasyona uğramamış olmalıdır.
- 4) DNA sentez işlemini başlatabilmelidir.

TP53:

TP53 $G1 \rightarrow S$ kontrol noktasının kritik regülatörüdür. TP53 DNA hasarına veya ekstrasellüler büyüme regülatör sinyallerine hücre cevabında kritik rol oynar. TP53 DNA hasarına karşı hücre siklus arrestini, CDKN1A (p21)'yı uyararak ve ardından transkripsiyonel olarak DNA onarım enzimlerini aktive ederek gerçekleştirir. Eğer hücre büyümesini durduramazsa ve/veya DNA onarımı yapamazsa, TP53 hücreyi apoptoza götürür. TP53-bağımlı genlerin ekspresyonu genomun sağlıklı bir replikasyonunu sağlar.

TP53'ün DNA onarımı, hücre siklus arresti ve apoptozdaki kritik rolü dikkate alındığında, insan tümörlerinde en sık mutasyona uğrayan gen olması sürpriz değildir. Tüm tümörlerin yaklaşık % 50'si TP53 mutasyonuna sahiptir (86).

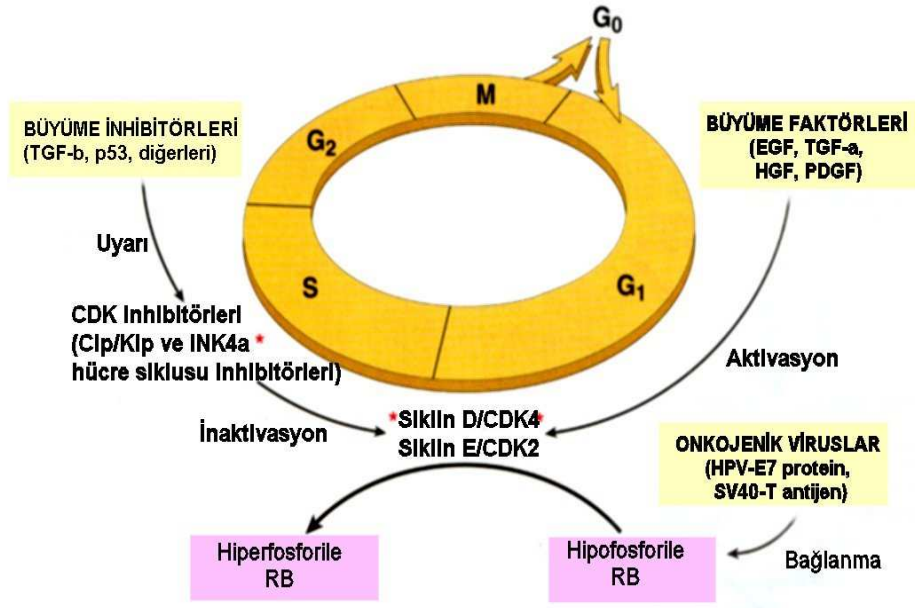
G1→S kontrol noktasının regülasyonunda diğer proteinlerin ekspresyonu da önemlidir. Hücre siklusunun pasajı siklin-CDK komplekslerinin ardışık aktivasyonuna gereksinim duyar. Siklin-CDK aktivasyonunun büyüklüğü ve özellikle zamanlaması fosforilasyon ve protein etkileşimleri ile regüle edilir. En sık G1→S siklin-CDK kompleksleri siklin A-CDK2, siklin E-CDK2, siklin D-CDK4 ve siklin D-CDK6'dır. Bu siklin-CDK kompleksleri hücrelerin G1'i geçip S fazına girmesi için gereklidir. Siklin-CDK komplekslerinin aşırı ekspresyonu G1→S arrestini kısaltır, buna karşın azalmış ekspresyon hücreleri G1'de arreste uğratar (87). Bu G1→S kontrol noktasını kontrol kabiliyetleri siklinleri ve CDK'ları önemli onkojenler haline getirmektedir (88).

Siklin D ekspresyonu G1→S kontrol noktasında kritiktir. Ekspresyon mitojen bağımlıdır, yani normalde sadece ekstrasellüler bir sinyale cevap olarak oluşur.

Siklin-CDK kompleksleri primer olarak G1→S kontrol noktasında retinoblastom (RB) proteinini fosforile etmek şeklinde fonksiyon gösterir. RB fonksiyon kaybının tümör formasyonunda kritik olduğu gösterilmiş olduğundan, siklin-CDK aktivitesinin multipl seviyede regüle edilmesi sürpriz değildir.

CDK inhibitörleri:

G1→S kontrol noktasının siklin-CDK komplekslerinin aktivitesi büyük oranda CDK inhibitörlerinin cip/kip ve INK4 ailelerinin üyeleri tarafından kontrol edilir. CDK inhibitörleri çeşitli sinyallere (DNA hasarı, hücre-hücre teması, sitokin salınımı, hipoksi) cevap olarak birikir. INK4 ailesi üyeleri spesifik olarak CDK4 ve CDK6'yı bağlarken, cip/kip ailesi üyeleri çoğu siklin-CDK kompleksini bağlar (89). Her iki inhibitör ailesi siklin-CDK komplekslerine bağlanarak RB fosforilasyonunu inhibe eder ve böylece replikatif mekanizmayı arreste uğratar (**Şekil 2.3**).



Şekil 2.3. Hücre Siklus İnhibitörleri.

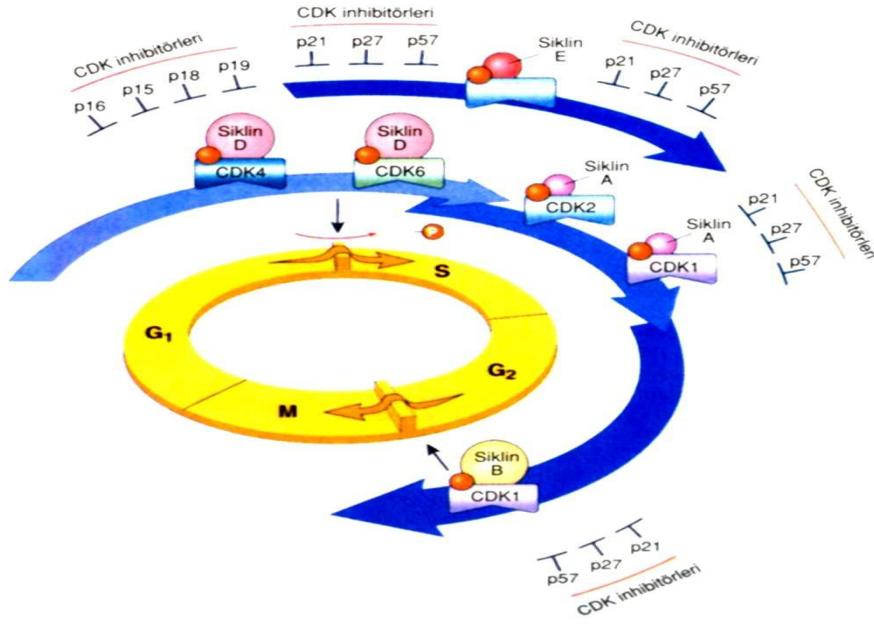
INK4 fonksiyonu:

CDK inhibitörlerinin INK4 ailesi, siklin D'nin CDK4 ve CDK6 ile birlikteliğini, siklin D-CDK4/6 kompleksinin fosforilasyonunu bloke ederek, inhibe eder. Bu ailenin 4 üyesi vardır: CDKN2A (p16), CDKN2B, CDKN2C, CDKN2D (Şekil 2.4). İnaktive edici mutasyonlar ile CDKN2A ve CDKN2B'nin anormal metilasyonunun kanserlerde önemli olduğu düşünülmektedir (90). CDKN2A (p16)'nın çeşitli tümörlerde mutasyonlar ve delesyonlar gösterdiği bulunmuştur. CDKN2A (p16) inaktivasyonu veya somatik edinsel delesyonu pankreatik karsinomlarda, glioblastomda, özofagus kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu, yumuşak doku sarkomu ve mesane kanserinde saptanmıştır (32). CDKN2B geni kromozom 9p'de CDKN2A (p16) genine komşudur, bu nedenle CDKN2A (p16) kaybı olan tümörlerin çoğunda delesyona uğramıştır. Bununla birlikte, CDKN2B'nin tumorigenezde CDKN2A (p16) kadar kuvvetli rolü olmadığı düşünülmektedir.

Cip/kip fonksiyonu:

CDK inhibitörlerinin cip/kip ailesinin üyeleri [CDKN1A (p21), CDKN1B (p27), CDKN1C] siklin-CDK komplekslerinin negatif regülatörleridir (Şekil 2.4). Siklin A-CDK2 ve Siklin E-CDK2 komplekslerine bağlanarak RB fosforilasyonunu

önlerler ve hücre siklus arrestini muhafaza ederler. CDKN1A (p21) ve CDKN1B (p27) ayrıca siklin D-CDK4 kompleksine bağlanır, fakat bu, siklin E-CDK2'yi indirekt aktive etmek şeklinde fonksiyon görür.



Şekil 2.4. INK4 ve Cip/kip Aileleri.

Cip/kip ailesi üyeleri $G1 \rightarrow S$ hücre siklus arrestinde oynadıkları kritik role rağmen, çeşitli malignensilerde nadiren mutasyona uğrarlar ve hipermetilasyon da bildirilmemiştir. Ancak, CDK inhibitörlerinin bu ailesinin ekspresyonu genel olarak kanserlerde önemli rol oynar. Stein ve ark. (91) CDKN1A (p21)'nın mesane tümörlerinin %64'ünde artmış ekspresyon gösterdiğini bulmuşlardır. Bu araştırmacılar aynı zamanda artmış ekspresyonun azalmış tümör rekürrens olasılığı ve olumlu hasta sağkalımı ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Radikal prostatektomili hastalarda azalmış CDKN1B (p27) nükleer boyanmasının, azalmış hastaliksız sağkalım ve genel sağkalım ile korele olduğu saptanmıştır (92).

Retinoblastoma (RB) geni:

İlk tanımlanan tümör baskılayıcı genidir. $G1 \rightarrow S$ kontrol noktasında bir başka anahtar regülatör elemandır. Siklin-CDK kompleksleri RB veya aile üyelerini

fosforile eder. Aktif durumdaki RB, hücrenin siklusta G1'den S fazına ilerlemesinde fren görevi yapar. Hücre büyüme faktörü uyarıldığı zaman, RB proteini fosforilasyonla inaktif hale gelir, fren serbest bırakılır ve hücre G1→S noktasına geçer. RB ve aile üyelerinin fosforilasyonu siklin-CDK komplekslerince oluşturulur. Hücre S fazına girince ilave büyüme faktörü uyarısı olmadan, bölünme başlatılır. M fazı sırasında sellüler fosfatlarla RB'den fosfat grupları alınır ve defosforile RB şeklinde rejenere olur.

Sessiz hücre (G0 veya erken G1), aktif, fosforile olmamış RB içerir. Bu evrede RB, E2F kopyalama faktörü ailesini bağlayarak ve muhtemelen sekestrasyonla, hücre çoğalmasını önler. Sessiz hücre, büyüme faktörleri ile uyarıldığında, siklin D ve siklin E konsantrasyonu artar ve sonuçta siklin D/CDK4, siklin D/CDK6 ve siklin E/CDK2 aktivasyonu RB fosforilasyonuna yol açar. Aşırı fosforile olmuş RB formu E2F kopyalama faktörü salar ve değişik hedef genleri aktive eder. RB proteini yoksa veya sekestre kopyalama faktörleri yetersiz ise, mutasyonlar ortaya çıkar ve hücre S fazına geçer.

G2→M Kontrol Noktası:

G2→M kontrol noktası hücre bölünmesi için ikinci major kontrol noktasıdır. Fonksiyonun kaybı uygunsuz bölünmeye neden olur. DNA hasarına ek olarak çeşitli ekstrasellüler sinyallere cevap veren G1→S kontrol noktasından farklı olarak, G2→M sadece DNA hasarına cevap verir. Dolayısıyla, replikasyon hataları için önemli bir kontrol noktası oluşturur (93).

Hücrenin, genomunu replike ettiğinde, her kromozomun 2 kopyasını ayırması gerekir. Siklin-CDK kompleksleri bu ayrılmayı G1→S kontrol noktasında olana benzer şekilde koordine eder.

G2→M arrestinin en azından bir kısmının da TP53 ve BRCA1 aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. TP53 tarafından hücre siklus inhibitörlerinin [CDKN1A (p21), GADD45 gibi] transkripsiyonel upregülasyonu hücreyi G2→M arrestinde tutar (94). Sonuç olarak, TP53 hem G1→S hem de G2→M arrestinde aracılık yapmaktadır, bu da TP53'ün genomik integriteyi korumadaki kritik rolü ile uyumlu görünmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM *

3.1.Olgu Seçimi

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda "uterin düz kas tümörü" tanısı alan toplam 53 olgu çalışmaya dahil edildi. Olguların yaşı, operasyon şekli, operasyon sonrası uygulanan tedavi yöntemleri ve takip süreleri ile ilgili bilgiler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan ve hasta dosya arşivinden derlendi.

Olgulara ait mikroskopik özellikler yeniden gözden geçirildi. Mikroskopik incelemede sitolojik atipi, mitotik aktivite, koagülatif tümör nekrozu ve vasküler tutulum varlığı, tümörün hücreliliği ve çevre doku ile ilişkisi değerlendirildi. Mitotik aktivite belirlenirken, mitotik olarak en aktif saha bulunup, bu alanda birbirini takip eden 10 büyük büyütme sahasındaki mitoz sayısı değerlendirmeye alındı. Sadece gerçek mitotik figürlerin sayılmasına özen gösterildi.

Leiomyosarkomlu hastaların klinik evrelemeleri endometrial kanserler için de kullanılan FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) evreleme sistemine göre yapıldı. Leiomyosarkom olgularının histopatolojik derecelendirilmesinde ise FNCLCC (Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer) derecelendirme sistemi kullanıldı (95).

Olgulara ait daha önceden hazırlanmış ve H&E ile boyanmış histolojik kesitler tekrar gözden geçirilerek, her olgu için tümöre ait özellikleri içeren bir parafin bloktan 3-4 mikron kalınlığında yeni kesitler hazırlandı. Bu kesitlere p21 ve p16 belirleyicileri ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. Tüm olgulara ait fotoğraflar Nikon Eclipse E600 mikroskoba ait DS-5M dijital kamera ile çekildi.

3.2. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Her olgu için hazırlanan 3-4 mikron kalınlığındaki kesitlere fare konağında hazırlanmış anti-p16 (Cell Marque, USA) ve anti-p21 (ScyTek, USA) monoklonal antikoları ile streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Deparafinize kesitlere sırasıyla 10 dakika %3'lük hidrojen peroksidaz (H₂O₂) ile inkübe edilip, 30 saniye distile su, 2 dakika phosphate buffer saline (PBS)

(PH:7.4) solüsyonu ile yıkandı, 5 dakika blok solüsyonu, 60 dakika primer antikor uygulandıktan sonra 2 dakika phosphate buffer saline (PBS) (PH:7.4) ile yıkandı, 10 dakika link, 10 dakika streptavidin, 1-5 dakika chromogen (AEC) ve distile su ile yıkandı.

3.3. İmmünohistokimyasal Analiz

İmmünohistokimyasal incelemede, p21 ve p16 için nükleer boyanma dikkate alındı. Çalışmamızda immünohistokimyasal analiz iki şekilde yapıldı:

1. Doku örneklerinde en yoğun boyanma saptanan alanlarda ortalama 1000 tümöral hücre sayılarak, boyanma gösteren hücre sayısı yüzde değer olarak belirlendi. Buna göre hiçbir hücrede pozitif boyanma yok ya da nadir hücrede şüpheli pozitif boyanma mevcutsa skor:0, %10'dan az hücrede boyanma mevcutsa skor:1, %10-25 arası hücrede boyanma mevcutsa skor:2, %26-50 arası hücrede boyanma mevcutsa skor:3, %51 ve üzerinde hücrede boyanma mevcutsa skor:4 olarak değerlendirildi.
2. Hücrelerdeki nükleer boyanma şiddetine göre çok koyu nükleer boyanma (+++), orta şiddette boyanma (++), zayıf boyanma (+) olarak değerlendirildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 13.0 bilgisayar programına girildi. İstatistiksel değerlendirmede, çeşitli uterin düz kas tümör grupları arasındaki p21 ve p16 boyanma yüzde ve şiddet farklılıkları Pearson ki-kare exact ve Fisher's exact testleri kullanılarak araştırıldı. Leiomyosarkom olgularının yaşam eğrilerini oluşturmada Kaplan-Meier metodu uygulandı. Leiomyosarkom olgularında çeşitli parametrelerin hastalıksız ve genel sağkalım üzerine olan etkileri tek ve çok değişkenli Cox proportional hazards regresyon modeli (Backward stepwise) ile araştırıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

* Tez çalışması için yaptığımız başvuruya 22 Ağustos 2006 tarih ve 6 sayılı yazı ile etik kurul kararıyla onay verilmiştir.

BULGULAR

4.1. Klinik ve Histopatolojik Bulgular

Olgulardan 21'inin histopatolojik tanısı leiomyosarkom, 14'ünün atipik leiomyom, 15'inin leiomyom ve 3'ünün STUMP'du. Olgulara ait klinik ve patolojik özellikler **Tablo 4.1A ve 4.1B**'de gösterilmiştir.

Leiomyom olgularının tanı anındaki yaşları 37-61 (ortalama 47.33), atipik leiomyom olgularının yaşları 37-51 (ortalama 45.93), STUMP olgularının yaşları 39-51 (ortalama 45.67), leiomyosarkom olgularının yaşları ise 39-78 (ortalaması 58.14) arasında değişmekteydi.

Tümör çapı leiomyom olgularında 1.2-11 cm (ortalama 4.32), atipik leiomyom olgularında 1-7.5 cm (ortalama 4.33), STUMP olgularında 3-14 cm (ortalama 10), leiomyosarkom olgularında ise 4-26 cm (ortalama 16.75) arasında saptandı.

Leiomyosarkom olgularının tümünde koagülatif tümör hücre nekrozu mevcuttu. Leiomyosarkom olgularının mitoz sayıları 2-48/10 BBA arasında değişmekteydi (ortalama 16.75). Mitoz sayısı 0-9 arasında olan olgu sayısı 4 (% 19.05), 10-19 arasında olan olgu sayısı 9 (%42.85), 20 ve üzerinde olan olgu sayısı 8 (%38.10) idi. Leiomyom olgularının tümünde mitoz sayısı 10 BBA'nda 5'in altında bulundu. Mitoz sayısı atipik leiomyom olgularında 0-8/10 BBA (ortalama 2.92), STUMP olgularında 2-9/10 BBA (ortalama 4.33) arasında değişmekteydi. Leiomyosarkom olgularından 4'ünde (%19) vasküler tutulum mevcuttu.

FNCLCC derecelendirme sistemine göre 21 leiomyosarkom olgusunun 3'ü (%14.28) grade 1, 9'u (%42.85) grade 2 ve kalan 9'u (%42.85) grade 3 özellikteydi. FIGO klinik evrelemesinde 12 olgu (%57.14) evre I, 1 olgu (%4.76) evre II, 5 olgu (%23.80) evre III ve 3 olgu (%14.28) evre IV olarak evrelendirilmişti. Evre IV olgulardan 2'sinde tanı anında uzak metastaz (akciğer ve karaciğer) saptanmış olup, diğer bir olguda mesane, pelvik yan duvar ve batin ön duvarına tümöral invazyon mevcuttu. Takipler sırasında bu olgular dışında 2 olguda daha uzak metastaz (karaciğer ve beyin) saptandı. Leiomyosarkom olgularında lenf nodu tutulumu gözlenmedi.

Leiomyosarkom olgularının takiplerinde, 5 olguda (%23.8) 3-40 ay arasında değişen sürelerde rekürrens gözlemlendi. Olgulardan 16'sında (%76.1) tümör nedeni ölüm saptanmış olup, bu olguların tanı sonrası yaşam süreleri 3-92 ay (ortalama 20.3) arasında değişmekteydi.

STUMP tanısı alan 3 olgudan 2'sinde, 36 ve 120 aylık izlem süresinde hastalık kanıtı saptanmadı. Diğer olguya ait takip bilgileri elde edilemedi.

Tablo 4.1A. Leiomyosarkom Olgularının Klinikopatolojik Özellikleri.

No	Bx no	Y	Çap	M	N	G	V T	Met	E	R	RS (ay)	E x	YS (ay)	p16 (%)	p16 (Ş)	p21 (%)	p21 (Ş)
1	1075-7/97	53	22	15	+	2	-	+*kc	4	+	4	+	6	42	2	17	2
2	7951-6/97	58	23	10	+	3	-	+*ac	4	+	18	+	19	51	3	95	3
3	6994/98	46	5	2	+	1	-	-	1	-	-	+	20	6	1	48	2
4	6329/98	51	3.8	15	+	2	-	-	1	-	-	+	92	1	1	70	3
5	7430-6/99	70	15	25	+	2	+	-	3	-	-	+	4	55	3	54	3
6	8793/99	51	7	38	+	3	+	-	3	+	3	+	26	74	3	59	3
7	2512/00	67	14	11	+	2	-	-	3	-	-	+	33	77	3	64	3
8	6121-8/00	49	26	32	+	3	-	-	3	-	-	+	6	0	0	10	1
9	838/03	65	7.5	14	+	2	-	-	4	+	4	+	6	58	3	65	3
10	9015/99	39	15	2	+	2	-	-	1	+	40	+	56	13	2	10	3
11	6671/03	78	8	13	+	2	-	-	1	-	-	+	3	23	3	23	2
12	3750/05	52	7.5	33	+	3	+	+kc	1	-	-	+	7	62	3	44	1
13	8884/05	62	9.5	19	+	2	-	+be	1	-	-	+	9	45	3	15	1
14	9163-7/06	60	6	18	+	3	+	-	1	-	-	-	13	30	3	41	1
15	3040-4/07	63	5.5	18	+	2	-	-	1	-	-	+	5	46	3	47	3
16	292/87	55	5	35	+	3	-	-	1	-	-	+	8	59	3	72	3
17	3669-70/02	72	10	48	+	3	-	-	3	-	-	+	12	28	2	29	2
18	305/01	56	6	5	+	1	-	-	1	-	-	-	78	1	1	1	1
19	10931/04	57	6	25	+	3	-	-	1	-	-	-	32	12	1	16	2
20	6343-4/05	66	5.5	30	+	3	-	-	2	-	-	+	18	54	3	55	3
21	5914/03	51	4	3	+	1	-	-	1	-	-	-	49	46	3	40	2

Y: Yaş, M: Mitoz, N: Nekroz, G: Grade, VT: Vasküler Tutulum, E: Evre, Met: Metastaz, R: Rekürrens, RS: Rekürrens Süresi, YS: Yaşam Süresi, Ş: Boyanma şiddeti, *Takipte metastaz, ac: Akciğer, kc: Karaciğer, be: Beyin.

Tablo 4.1B. STUMP, Atipik Leiomyom ve Leiomyom Çalışma Olgularının
Klinikopatolojik Özellikleri.

No	Bx no	Tanı	Yaş	Çap	Mitoz	p16 (%)	p16 (Şiddet)	p21 (%)	p21 (Şiddet)
22	5287/97	STUMP	47	14.5	9	12	2	11	2
23	1089/04	STUMP	51	13	2	0	0	1	1
24	558/00	STUMP	39	3	2	0	0	0	0
25	133/01	ALM	49	6	3	0	0	2	2
26	880/01	ALM	41	1	2	0	0	0	0
27	6388/97	ALM	37	2	3	0	0	0	0
28	9832/07	ALM	44	7	3	1	1	2	2
29	8345/02	ALM	50	1.5	1	0	0	1	1
30	6439/04	ALM	49	7.5	2	0	0	1	1
31	7113/05	ALM	44	5	3	0	0	0	0
32	10407/06	ALM	46	3	2	0	0	9	2
33	5994/06	ALM	45	1.2	1	0	0	6	2
34	517/06	ALM	48	6	0	0	0	0	0
35	8366/04	ALM	45	4	8	0	0	0	0
36	10816/03	ALM	51	2.5	3	0	0	0	0
37	1635/02	ALM	50	5	6	0	0	0	0
38	3858/98	ALM	44	6.5	4	21	2	12	3
39	9559/01	LM	52	11	2	0	0	0	0
40	5108/02	LM	61	2	0	0	0	0	0
41	475/03	LM	46	2	1	0	0	0	0
42	8119/03	LM	44	8	4	4	2	0	0
43	7082/03	LM	43	8	2	0	0	0	0
44	11474/03	LM	54	4	0	0	0	0	0
45	1281/04	LM	38	5.5	0	3	2	1	2
46	3952/04	LM	37	3.2	0	6	2	11	3
47	5127/04	LM	50	2	1	0	0	0	0
48	5390/04	LM	40	1.9	1	0	0	2	2
49	10075/04	LM	51	1.2	0	0	0	0	0
50	11123/04	LM	52	5	1	6	1	2	2
51	11345/04	LM	49	4	3	0	0	0	0
52	260/05	LM	49	3.5	0	4	1	0	0
53	4806/06	LM	44	3.5	0	0	0	4	2

ALM: Atipik leiomyom, LM: Leiomyom,

STUMP: Malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal boyama sonuçları **Tablo 4.2 ve 4.3**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Uterin Düz Kas Tümörlerinin p16 Boyanma Yüzdesi ve Şiddeti.

	p16 yüzdesi					T	p16 şiddeti				T
	0	<10	11-25	26-50	>50		(0)	(+)	(++)	(+++)	
LMS	1	3	3	6	8	21	1	4	3	13	21
LM	10	5	0	0	0	15	10	2	3	0	15
ALM	12	1	1	0	0	14	12	1	1	0	14
STUMP	2	0	1	0	0	3	2	0	1	0	3
Toplam	25	9	5	6	8	53	25	7	8	13	53

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom,

LM: Leiomyom, STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Tablo 4.3. Uterin Düz Kas Tümörlerinin p 21 Boyanma Yüzdesi ve Şiddeti.

	p21 yüzdesi					T	p21 şiddeti				T
	0	<10	11-25	26-50	>50		(0)	(+)	(++)	(+++)	
LMS	0	1	6	7	7	21	0	5	6	10	21
LM	10	4	1	0	0	15	10	0	4	1	15
ALM	7	6	1	0	0	14	7	2	4	1	14
STUMP	1	1	1	0	0	3	1	1	1	0	3
Toplam	18	12	9	7	7	53	18	8	15	12	53

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom,

LM: Leiomyom, STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

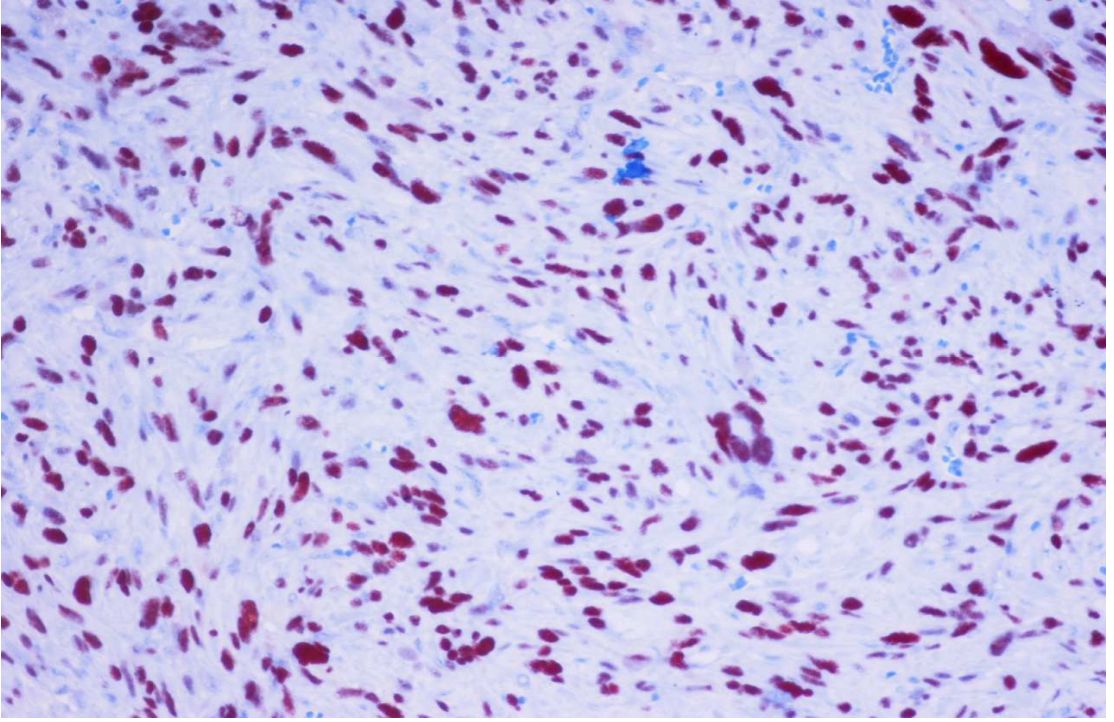
İmmünohistokimyasal değerlendirmede p16 ile 21 leiomyosarkom olgusundan 20'sinde (%95.2) boyanma mevcut olup, boyanma yüzdesi %0-77 arasında değişmekteydi. Boyanma şiddeti, boyanmanın görüldüğü olgulardan 13'ünde (+++), 3'ünde (++), 4'ünde (+) olarak saptandı. p21 ile tüm leiomyosarkom olgularında boyanma gözlenmiş olup, boyanma yüzdesi %1-95 arasında değişmekteydi. Boyanma şiddeti, olgulardan 10'unda (+++), 6'sında (++), 5'inde (+) olarak bulundu.

STUMP olgularından sadece 1'inde (%33.33) p16 ile boyanma saptanmış olup, boyanma yüzdesi %12, boyanma şiddeti (++) idi. p21 ile 2 olguda (%66.66) boyanma gözlenmiş olup, boyanma yüzdesi %1 ve %11, boyanma şiddeti (+) ve (++) olarak saptandı.

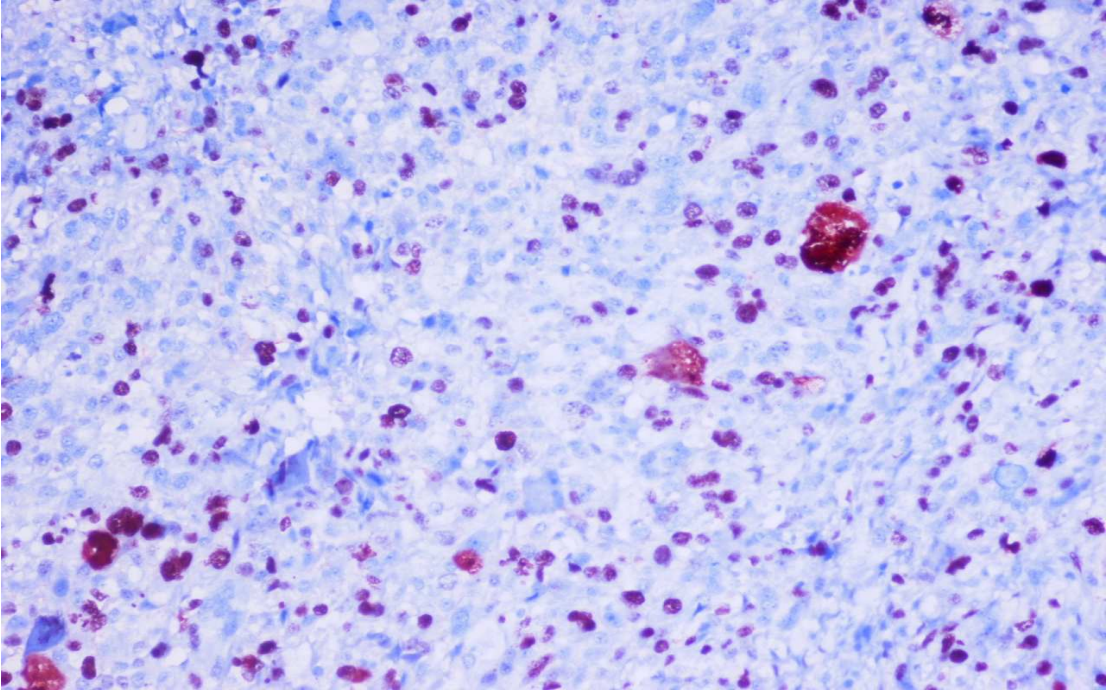
Atipik leiomyom olgularından 2'sinde (%14.28) p16 ile boyanma gözlenmiş olup, boyanma yüzdesi %1 ve %21, boyanma şiddeti (+) ve (++) idi. p21 ile atipik leiomyom olgularından 7'sinde (%50) %1-12 arasında boyanma mevcuttu. Boyanma şiddeti 2 olguda (+), 4 olguda (++), 1 olguda (+++) olarak saptandı.

p16 ile leiomyom tanısı olan 15 olgunun 5'inde (%33.33) boyanma izlenmiş olup, bu olguların tamamında boyanma yüzdesi %10'un altındaydı. Boyanma şiddeti, boyanmanın görüldüğü olgulardan 3'ünde (++), 2'sinde (+) olarak saptandı. p21 ile 15 leiomyom olgusunun 5'inde (%33.33) boyanma izlenmiş olup, olguların 4'ünde boyanma yüzdesi %10'un altında, 1 olguda ise %11 olarak bulundu. Olgulardan 4'ünde boyanma şiddeti (++), 1 olguda ise (+++) olarak saptandı.

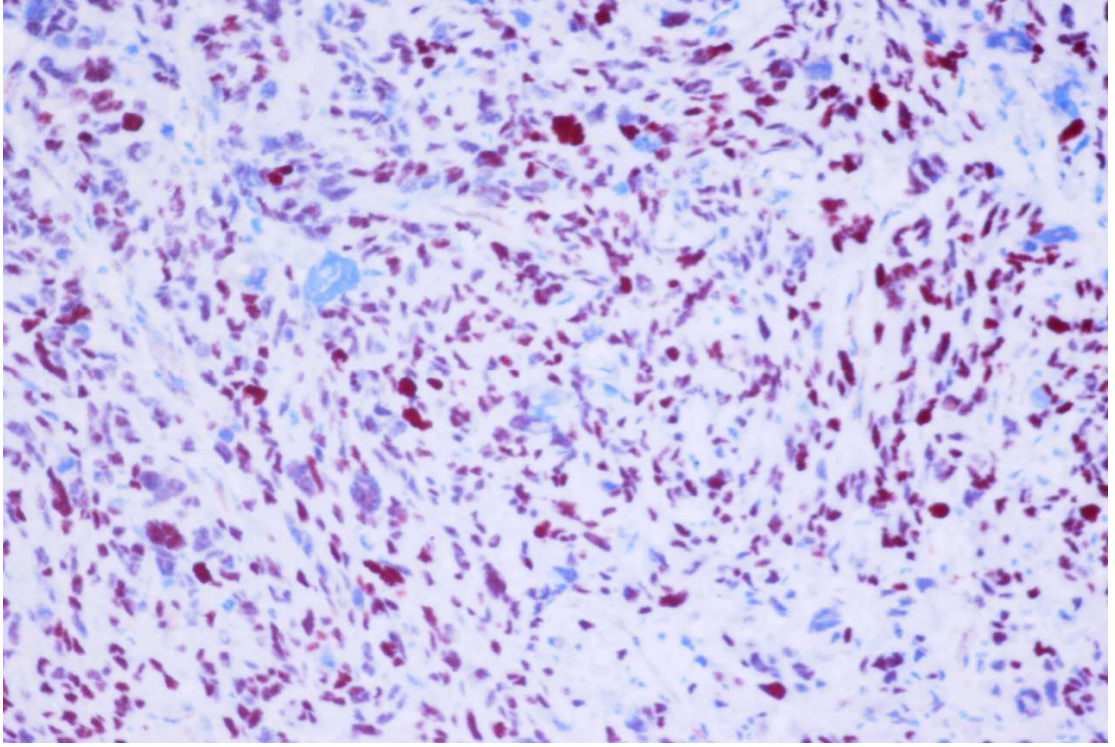
Olgulara ait immünohistokimyasal boyama örnekleri **Şekil 4.1-10'**da gösterilmiştir.



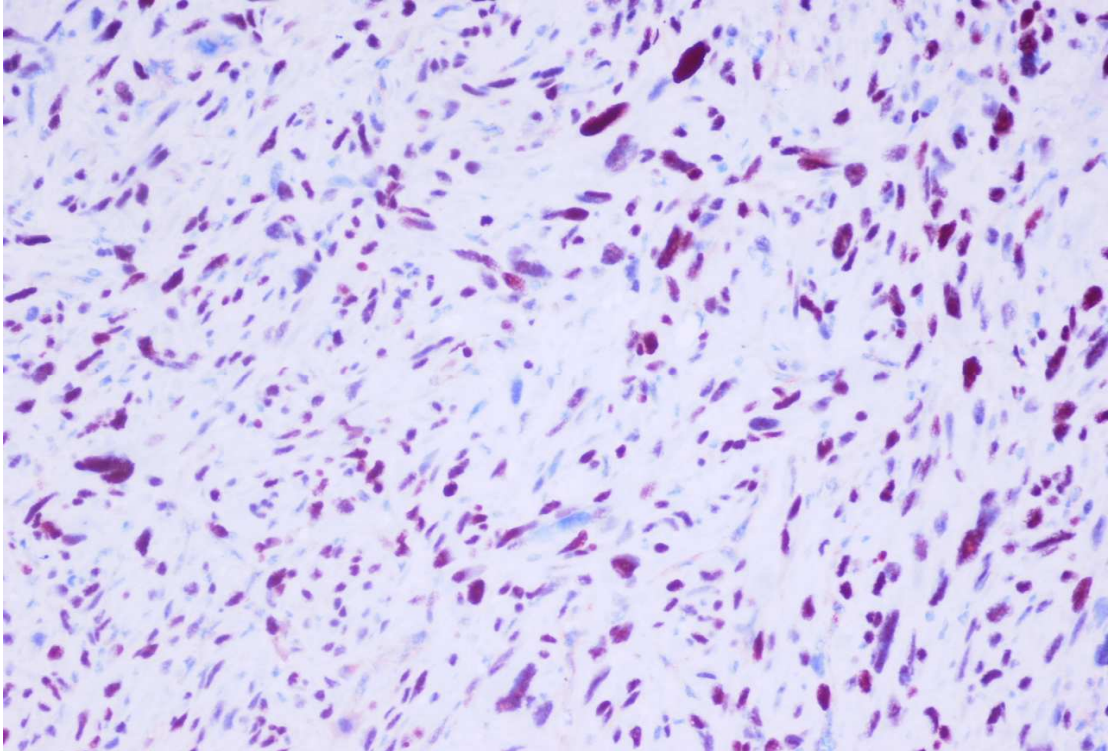
Şekil 4.1. Leiomyosarkom olgusunda nükleer p21 Pozitifliği (x200).



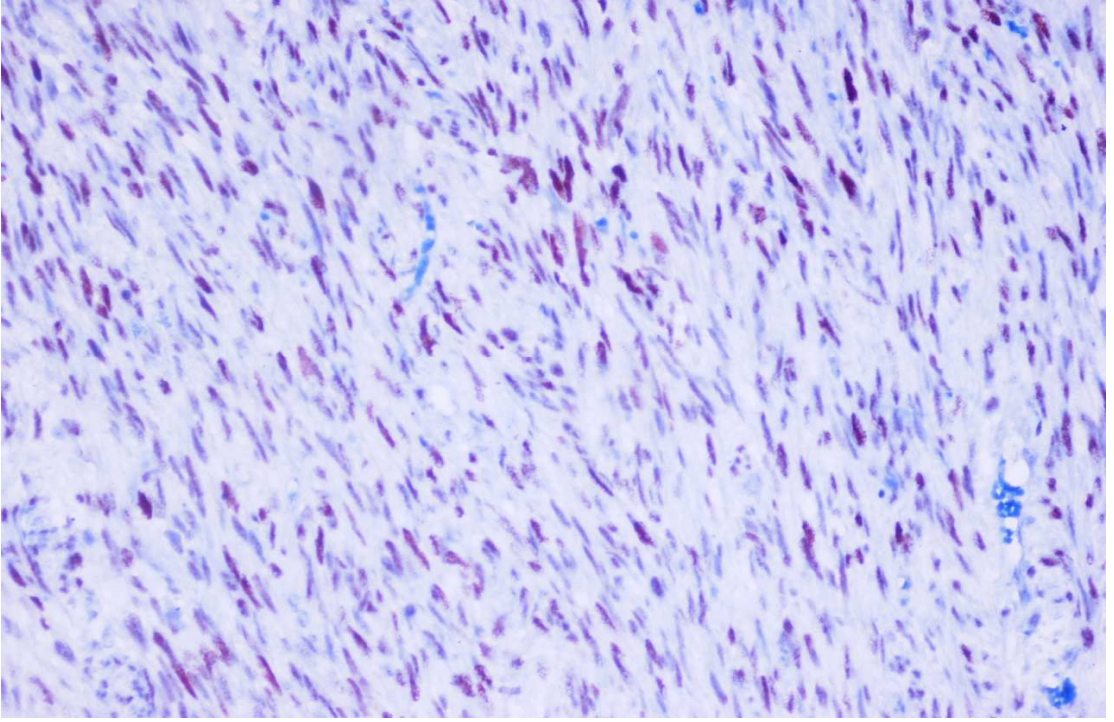
Şekil 4.2. Leiomyosarkom olgusunda nükleer p16 pozitifliği (x200).



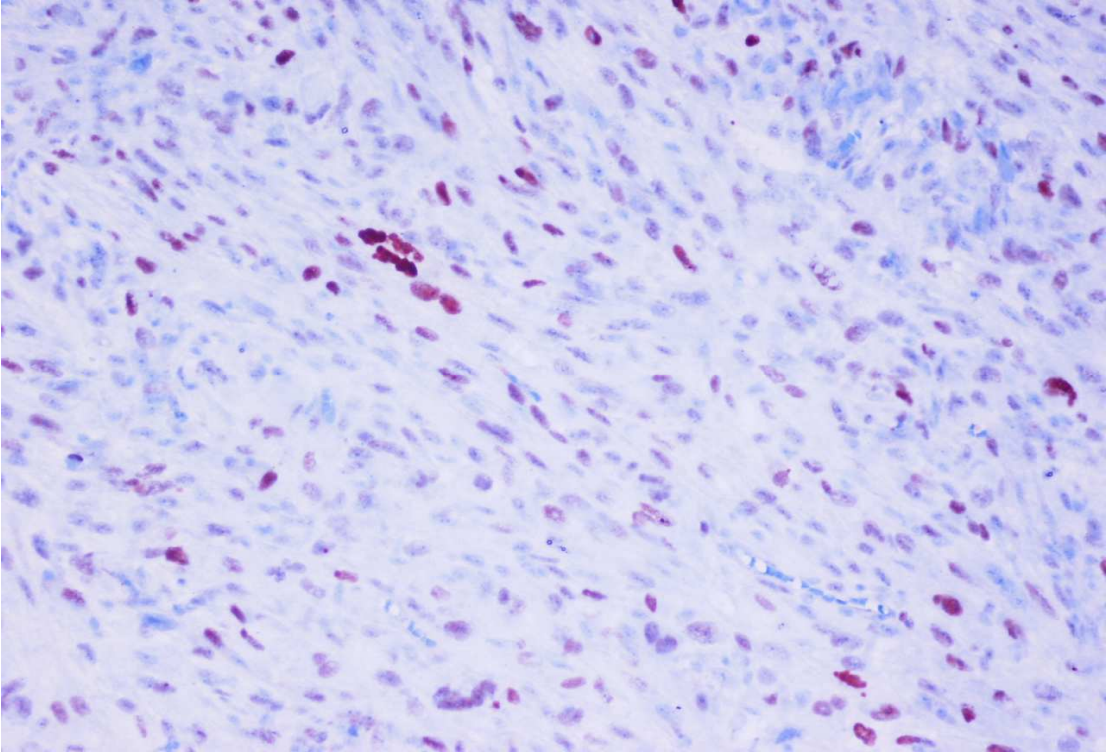
Şekil 4.3. Leiomyosarkom olgusunda p21 pozitifliği (x200).
Boyanma yüzdesi %95, boyanma şiddeti (+++).



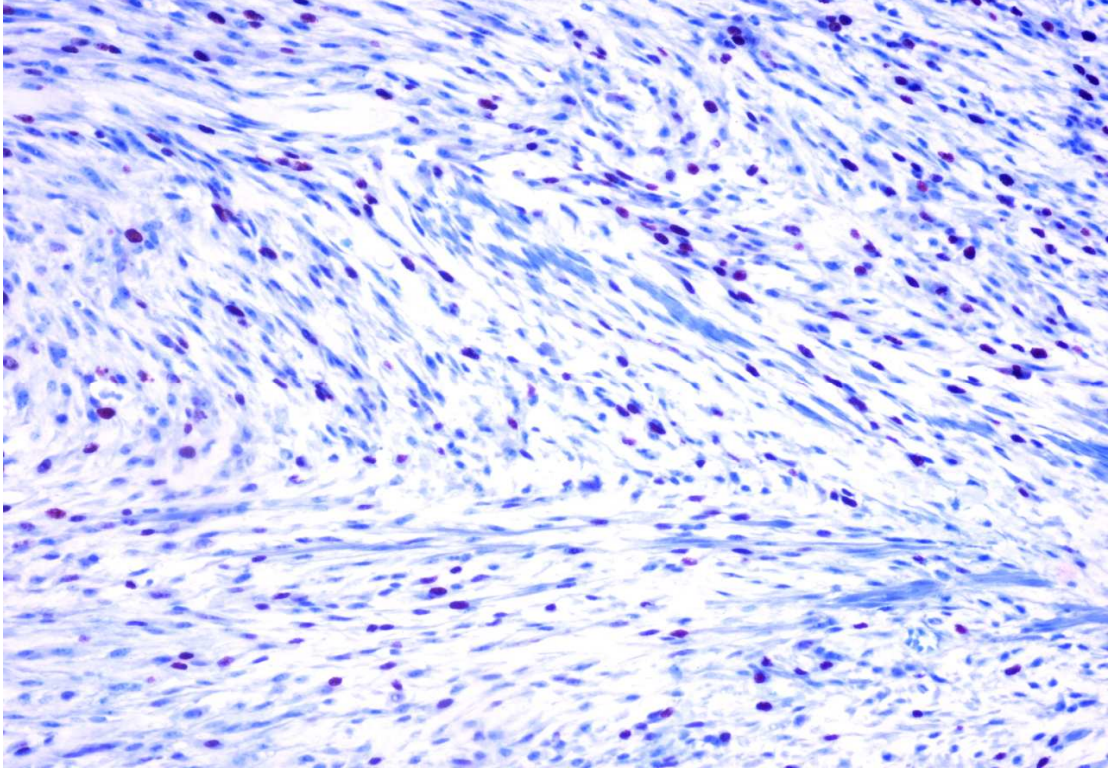
Şekil 4.4. Leiomyosarkom olgusunda p16 pozitifliği (x200).
Boyanma yüzdesi %77, boyanma şiddeti (+++).



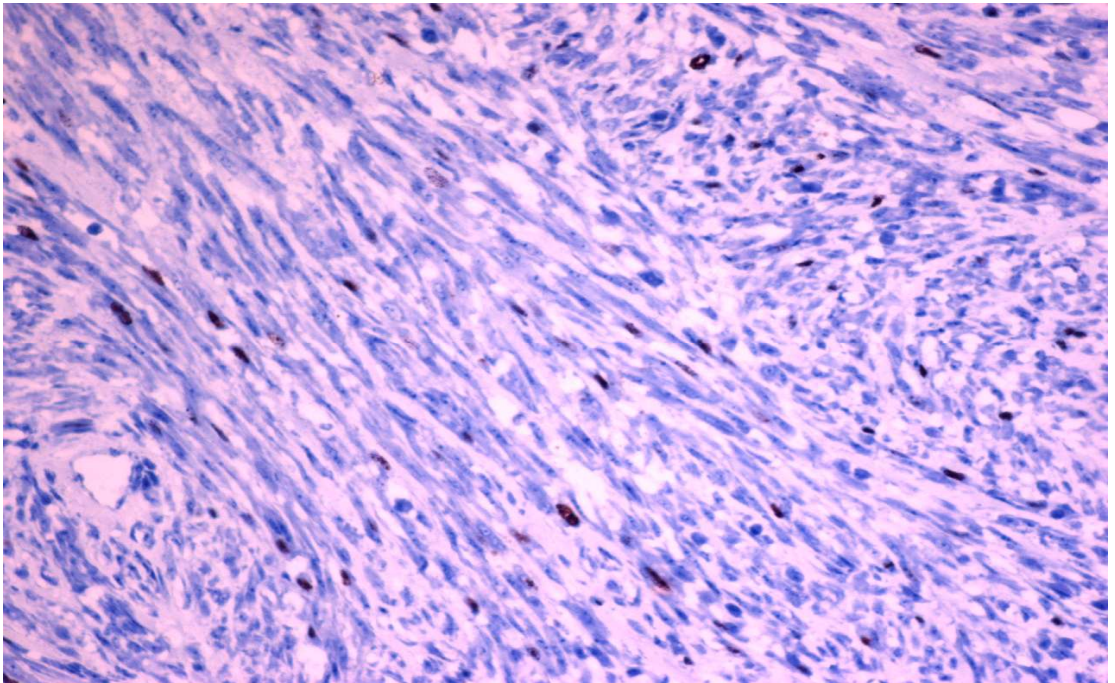
Şekil 4.5. Leiomyosarkom olgusunda p21 pozitifliği (x200).
Boyanma yüzdesi %48, boyanma şiddeti (++) .



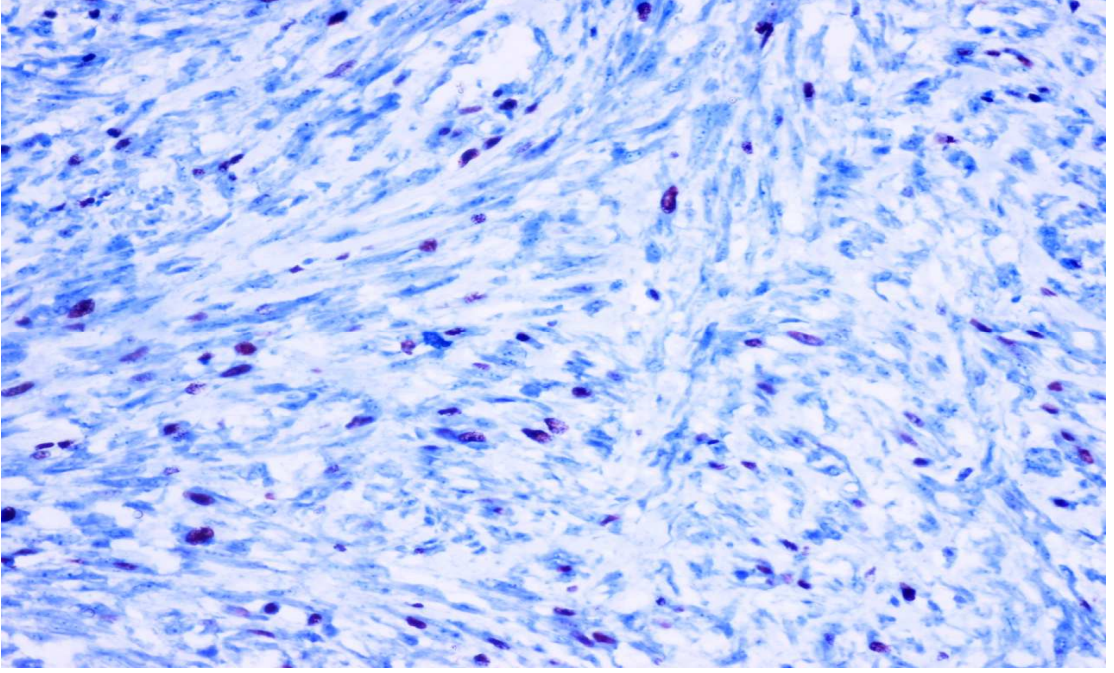
Şekil 4.6. Leiomyosarkom olgusunda p16 pozitifliği (x200).
Boyanma yüzdesi %42, boyanma şiddeti (++) .



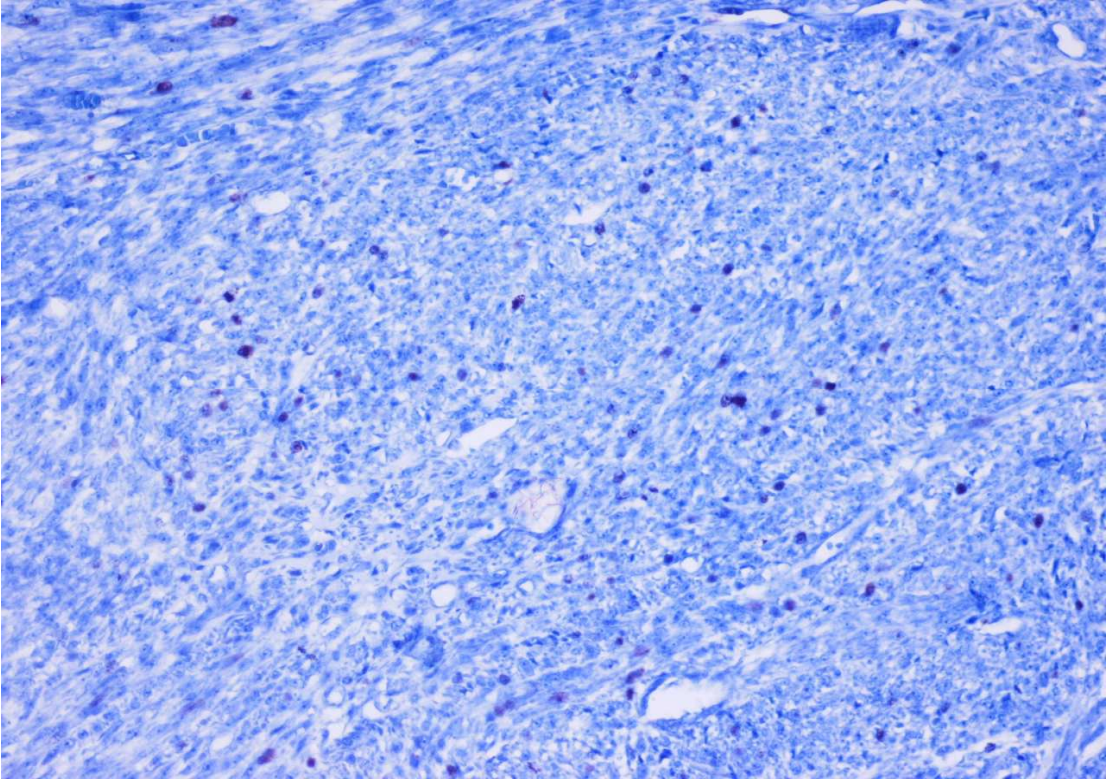
Şekil 4.7. STUMP olgusunda p16 pozitifliği (x100).
Boyanma yüzdesi %12, boyanma şiddeti (++)



Şekil 4.8. STUMP olgusunda p21 pozitifliği (x200).
Boyanma yüzdesi % 11, boyanma şiddeti (++)



Şekil 4.9. Atipik leiomyom olgusunda p21 pozitifliği (x200).
Boyama yüzdesi % 9, boyanma şiddeti (++).



Şekil 4.10. Leiomyom olgusunda p16 pozitifliği (x100).
Boyama yüzdesi %6, boyanma şiddeti (++).

4.3. İstatistiksel değerlendirme

Fisher's exact test ile leiomyosarkom, atipik leiomyom, leiomyom ve STUMP olgularının p16 ile boyanma yüzde ve şiddetleri karşılaştırıldığında, **Tablo 4.4 ve 4.5'de** gösterildiği gibi, leiomyosarkom olgularıyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($P<0.05$).

Tablo 4.4. Uterin Düz Kas Tümörlerinin Farklı Gruplarının p16 Boyanma Yüzdesi Açısından İstatistiksel Karşılaştırılması.

	p16 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	1	3	3	6	8	21	P<0.05
ALM	12	1	1	0	0	14	
LM	10	5	0	0	0	15	
STUMP	2	0	1	0	0	3	
Toplam	25	9	5	6	8	53	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom, LM: Leiomyom,
STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Tablo 4.5. Uterin Düz Kas Tümörlerinin Farklı Gruplarının p16 Boyanma Şiddeti Açısından İstatistiksel Karşılaştırılması.

	p16 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	1	4	3	13	21	P<0.05
ALM	12	1	1	0	14	
LM	10	2	3	0	15	
STUMP	2	0	1	0	3	
Toplam	25	7	8	13	53	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom, LM: leiomyom,
STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü

Fisher's exact testi ile leiomyosarkom, atipik leiomyom, alışıldık leiomyom ve STUMP olgularının p21 ile boyanma yüzde ve şiddetleri karşılaştırıldığında, **Tablo 4.6 ve 4.7'de** gösterildiği gibi, leiomyosarkom olgularıyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($P<0.05$).

Tablo 4.6. Uterin Düz Kas Tümörlerinin Farklı Gruplarının p21 Boyanma Yüzdesi Açısından İstatistiksel Karşılaştırılması.

	p21 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	0	1	6	7	7	21	P<0.05
ALM	7	6	1	0	0	14	
LM	10	4	1	0	0	15	
STUMP	1	1	1	0	0	3	
Toplam	18	12	9	7	7	53	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom, LM: Leiomyom,

STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Tablo 4.7. Uterin Düz Kas Tümörlerinin Farklı Gruplarının p21 Boyanma Şiddeti Açısından İstatistiksel Karşılaştırılması.

	P21 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	0	5	6	10	21	P<0.05
ALM	7	2	4	1	14	
LM	10	0	4	1	15	
STUMP	1	1	1	0	3	
Toplam	18	8	15	12	53	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom, LM: Leiomyom,

STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma yüzdeleri açısından atipik leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Leiomyosarkom ve Atipik Leiomyom Olgularının p16 Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması.

	p16 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	1	3	3	6	8	21	P<0.05
ALM	12	1	1	0	0	14	
Toplam	13	4	4	6	8	35	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma şiddeti açısından atipik leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Leiomyosarkom ve Atipik Leiomyom Olgularının p16 Boyanma Şiddeti Açısından Karşılaştırılması.

	p16 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	1	4	3	13	21	P<0.05
ALM	12	1	1	0	14	
Toplam	13	5	4	13	35	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma yüzdeleri açısından atipik leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Leiomyosarkom ve Atipik Leiomyom Olgularının p21 Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması.

	p 21 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	0	1	6	7	7	21	P<0.05
ALM	7	6	1	0	0	14	
Toplam	7	7	7	7	7	35	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma şiddeti açısından atipik leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Leiomyosarkom ve Atipik Leiomyom Olgularının p21 Boyanma Şiddeti Açısından Karşılaştırılması.

	P21 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	0	5	6	10	21	P<0.05
ALM	7	2	4	1	14	
Toplam	7	7	10	11	35	

LMS: Leiomyosarkom, ALM: Atipik Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma yüzdeleri açısından leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Leiomyosarkom ve Leiomyom Olgularının p16 Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması.

	p16 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	1	3	3	6	8	21	P<0.05
LM	10	5	0	0	0	15	
Toplam	11	8	3	6	8	36	

LMS: Leiomyosarkom, LM: Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma şiddeti açısından leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Leiomyosarkom ve Leiomyom Olgularının p16 Boyanma Şiddeti Açısından Karşılaştırılması.

	p16 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	1	4	3	13	21	P<0.05
LM	10	2	3	0	15	
Toplam	11	6	6	13	36	

LMS: Leiomyosarkom, LM: Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma yüzdeleri açısından leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. Leiomyosarkom ve Leiomyom Olgularının p21 Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması.

	p21 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	0	1	6	7	7	21	P<0.05
LM	10	4	1	0	0	15	
Toplam	10	5	7	7	7	36	

LMS: Leiomyosarkom, LM: Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma şiddeti açısından leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. Leiomyosarkom ve Leiomyom Olgularının p21 Boyanma Şiddeti Açısından Karşılaştırılması.

	p21 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	0	5	6	10	21	P<0.05
LM	10	0	4	1	15	
Toplam	10	5	10	11	36	

LMS: Leiomyosarkom, LM: Leiomyom.

Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma yüzdesi açısından STUMP olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (**Tablo 4.16**).

Tablo 4.16. Leiomyosarkom ve STUMP Olgularının p16 Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması.

	p16 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	1	3	3	6	8	21	P<0.05
STUMP	2	0	1	0	0	3	
Toplam	3	3	4	6	8	24	

LMS: Leiomyosarkom, STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma şiddeti açısından STUMP olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (**Tablo 4.17**).

Tablo 4.17. Leiomyosarkom ve STUMP Olgularının p16 Boyanma Şiddeti Açısından Karşılaştırılması.

	p16 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	1	4	3	13	21	P<0.05
STUMP	2	0	1	0	3	
Toplam	3	4	4	13	24	

LMS: Leiomyosarkom, STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma yüzdeleri açısından STUMP olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$) (**Tablo 4.18**).

Tablo 4.18. Leiomyosarkom ve STUMP Olgularının p21 Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması.

	p21 boyanma yüzdesi						P değeri
	0	<10	11-25	26-50	>50	Toplam	
LMS	0	1	6	7	7	21	P<0.05
STUMP	1	1	1	0	0	3	
Toplam	1	2	7	7	7	24	

LMS: Leiomyosarkom, STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma şiddetleri açısından STUMP olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P>0.05$) (**Tablo 4.19**).

Tablo 4.19. Leiomyosarkom ve STUMP Olgularının p21 Boyanma Şiddeti Açısından Karşılaştırılması.

	p21 boyanma şiddeti					P değeri
	0	(+)	(++)	(+++)	Toplam	
LMS	0	5	6	10	21	P>0.05
STUMP	1	1	1	0	3	
Toplam	1	6	7	10	24	

LMS: Leiomyosarkom, STUMP: Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü.

Leiomyom, atipik leiomyom ve STUMP olguları, p16 ve p21 ile boyanma yüzdeleri ve boyanma şiddetleri açısından karşılaştırıldığında, bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P>0.05$).

Çalışmamızda ayrıca leiomyosarkom olgularına ait klinikopatolojik bulgular ile p16 ve p21 belirleyicilerine ait boyanma yüzdeleri arasındaki korelasyon da Pearson ki-kare exact test ile araştırıldı. Her iki belirleyicinin boyanma yüzdelerinin median değerleri *cut-off* değer olarak kabul edilerek, olgular boyanma yüzdeleri açısından iki gruba ayrıldı. p16 için *cut-off* değeri %45, p21 için %40 olarak saptandı. **Tablo 4.20'de** gösterildiği gibi p16 ve p21 immünohistokimyasal boyanma yüzdeleri ile klinikopatolojik parametreler arasında korelasyon saptanmadı ($P>0.05$).

Tablo 4.20. Leiomyosarkom Olgularında p16 ve p21 İmmünreaktivitesi ile Klinikopatolojik Parametrelerin Korelasyonu.

	p16 boyanma yüzdesi		P değeri	p21 boyanma yüzdesi		P değeri
	45≥	45<		40≥	40<	
Yaş						
50>	3	1	0.586	3	1	0.586
50≤	8	9		8	9	
Çap						
10cm>	8	7	1.000	7	8	0.635
10cm≤	3	3		4	2	
Mitoz						
20>	8	5	0.387	7	6	1.000
20≤	3	5		4	4	
Grade						
1	2	1	1.000	2	1	1.000
2	5	4		5	4	
3	4	5		4	5	
Vasküler tutulum						
Yok	10	7	0.311	9	8	1.000
Var	1	3		2	2	
Metastaz						
Yok	9	8	1.000	9	8	1.000
Var	2	2		2	2	
Evre						
I+II	8	4	0.198	7	5	0.670
III+IV	3	6		4	5	
Rekürrens						
Yok	9	7	0.635	9	7	0.635
Var	2	3		2	3	
Exitus						
Yok	3	2	1.000	4	1	0.311
Var	8	8		7	9	

4.4. Leiomyosarkom Olgularının Sağkalım Analizleri

Leiomyosarkom olgularında rekürrens açısından prognostik değere sahip olabilecek klinikopatolojik parametreleri belirleyebilmek için, tüm parametreler Cox proportional hazards regresyon modeline dahil edildi.

Tek ve çok değişkenli Cox proportional hazards regresyon analizinde, **Tablo 4.21**'de gösterildiği gibi, rekürrens ile klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($P>0.05$).

Tablo 4.21. Leiomyosarkom Olgularının Rekürrenssiz Sağkalım Analizi.

	P değeri	
	Tek değişkenli analiz	Çok değişkenli analiz
Tam yaşı ($50>$ vs $50\leq$)	0.928	0.711
Tümör çapı ($10\text{cm}>$ vs $10\text{cm}\leq$)	0.628	0.749
Mitoz ($20>$ vs $20\leq$)	0.718	0.392
Grade 1 vs 2 vs 3	0.999	0.720
Vasküler tutulum (yok vs var)	0.461	0.523
Metastaz (yok vs var)	0.128	0.969
Evre (I+II vs III+IV)	0.273	0.684
p16 ($45\geq$ vs $45<$)	0.427	0.969
p21 ($40\geq$ vs $40<$)	0.485	0.999

Leiomyosarkom olgularında genel sağkalım açısından anlamlı olabilecek parametreleri ortaya koyabilmek için uygulanan çok değişkenli Cox proportional hazards regresyon (backward stepwise) analizinde, klinikopatolojik parametrelerden sadece evrenin (I+II vs III+IV) bağımsız bir öneme sahip olduğu bulundu ($p<0.05$) (**Tablo 4.22**).

Tablo 4.22. Leiomyosarkom Olgularının Genel Sağkalım Analizi.

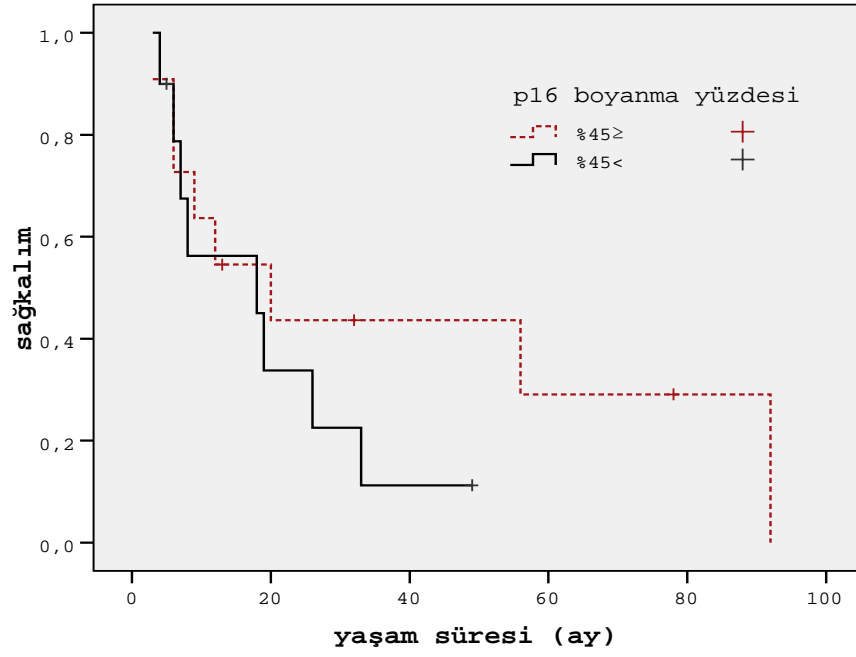
	Çok değişkenli analiz		
	P değeri	Hazard Ratio	%95 CI
Evre (I+II vs III+IV)	0.041	3.177	1.047-9.640

Tek değişkenli analizde de, klinikopatolojik parametrelerden sadece evrenin (I+II vs III+IV) genel sağkalım açısından anlamlı olduğu bulundu ($P < 0.05$) (**Tablo 4.23**).

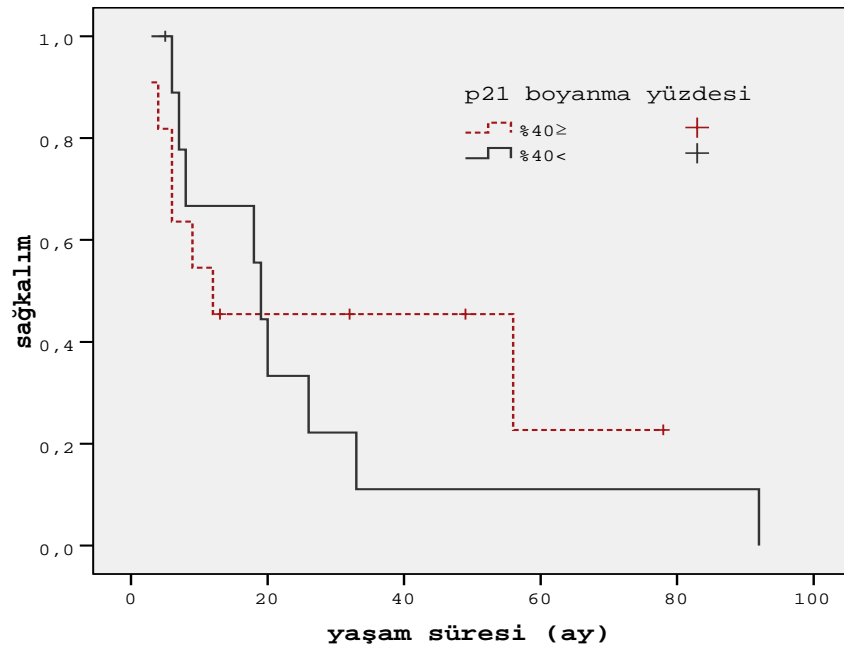
Tablo 4.23. Leiomyosarkom Olgularının Genel Sağkalım Analizi.

	Tek değişkenli analiz
	P değeri
Tam yaşı ($50 >$ vs $50 \leq$)	0.443
Tümör çapı ($10\text{cm} >$ vs $10\text{cm} \leq$)	0.405
Mitoz ($20 >$ vs $20 \leq$)	0.136
Grade 1 vs 2 vs 3	0.322
Vasküler tutulum (yok vs var)	0.463
Metastaz (yok vs var)	0.094
Evre (I+II vs III+IV)	0.041
p16 ($45 \geq$ vs $45 <$)	0.325
p21 ($40 \geq$ vs $40 <$)	0.712

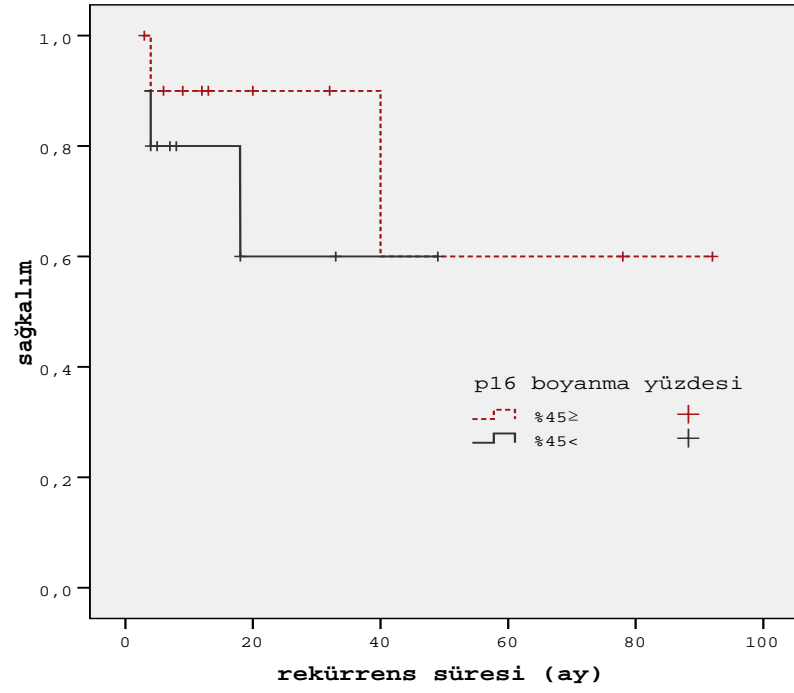
Leiomyosarkom olgularının p16 ve p21 boyanma yüzdelerine göre Kaplan-Meier metodu kullanılarak oluşturulan genel sağkalım ve rekürrensiz sağkalım eğrileri **Şekil 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14**'de gösterilmiş olup, log-rank testte anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).



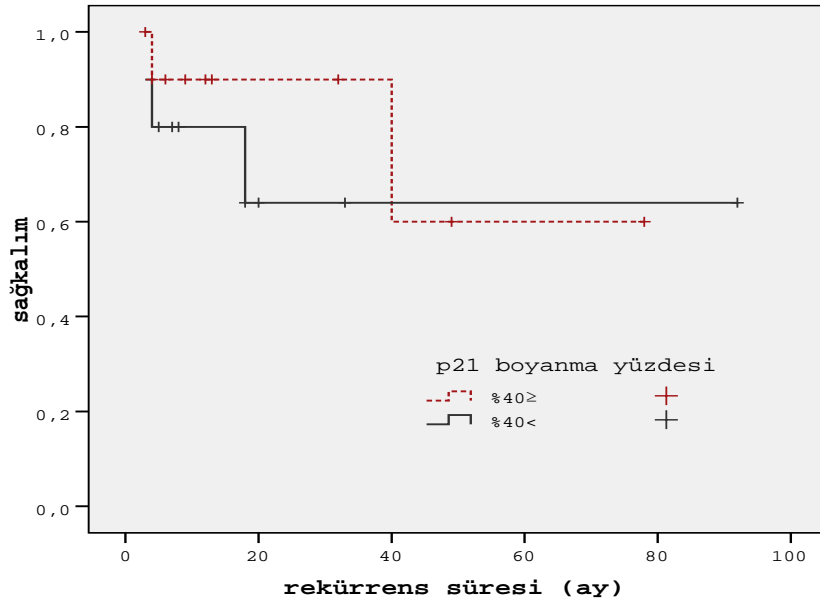
Şekil 4.11. Genel sağkalım süresinin p16 boyanma yüzdesi ile ilişkisi
($p=0.313$, Log-rank test).



Şekil 4.12. Genel sağkalım süresinin p21 boyanma yüzdesi ile ilişkisi
($p=0.708$, Log-rank test).



Şekil 4.13. Rekürrenssiz sağkalım süresinin p16 boyanma yüzdesi ile ilişkisi (p=0.412, Log-rank test).



Şekil 4.14. Rekürrenssiz sağkalım süresinin p21 boyanma yüzdesi ile ilişkisi (p=0.473, Log-rank test).

TARTIŞMA

Düz kas tümörleri uterusun en sık görülen tümörleridir. Leiomyomlar 35 yaş üzeri kadınların yaklaşık % 40'ında görülürken, leiomyosarkomlar uterin düz kas tümörlerinin sadece küçük bir yüzdesini oluşturmaktadır. Çoğu leiomyom ve leiomyosarkom olgusuna histopatolojik kriterlerle kolaylıkla tanı konulabilmektedir. Uterin düz kas tümörlerinde malignensi özellikleri şiddetli nükleer atipi, yüksek mitotik aktivite, koagülatif tümör nekrozu varlığı ve infiltratif tümör sınıridir (18). Az sayıda uterin düz kas proliferasyonu ise çeşitli nedenlerle tanısız güçlüğe yol açabilmektedir. Leiomyomun az görülen varyantları olan atipik leiomyom, mitotik aktif leiomyom ve sellüler leiomyomların sahip oldukları bazı özellikler (sırasıyla, nükleer atipi, yüksek mitotik indeks, yüksek sellülarite) nedeniyle leiomyosarkomlardan ayırımında, en azından bazı olgularda, büyük güçlükler yaşanabilmektedir. Ayrıca bazı düz kas tümörleri, histopatolojik kriterlerin kombine edilmesine rağmen, benign veya malign olarak kategorize edilememekte olup, bu olgular malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörleri (STUMP) olarak adlandırılmaktadır. Sonuçta uterin düz kas tümörlerinin benign veya malign olarak güvenilir bir şekilde kategorize edilebilmesi, prognostik ve terapötik açıdan büyük öneme sahiptir.

Yıllar içerisinde çok sayıda immünohistokimyasal ve histokimyasal belirleyici kullanılarak yapılan çalışmalarla uterin düz kas tümörlerinde ayırıcı tanı ve prognostik değerlendirme yapılmaya çalışılmış (1,2,4-13), ancak yapılan çalışmalarda ayırıcı tanıdaki zorluklar tümüyle giderilememiştir.

Karsinogenezde hücre siklus kontrolünün kaybı önemli bir basamaktır. Normal durumda, hücre proliferasyonunun farklı moleküler kaskadlarla regüle edildiği görülür ki bunların çoğunda tümör süpresör proteinler ya da onkogen ürünlerin rol aldığı bilinmektedir (1). Hücre siklus regülatörlerinin çeşitli tümörlerin genезisindeki rolleri hakkında çok sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte (1,2,5,7, 8,10,11,83,88-92,96,97), mezenkimal neoplazilerdeki rolleri üzerinde çok az çalışılmıştır. Bu proteinlerin uterusun çeşitli tipteki düz kas tümörlerindeki ekspresyonları ile ilgili olarak az sayıda çalışma bulunmaktadır (1,2,5,7-9,11,13). Biz bu çalışmada, tanısız olarak problemlili uterin düz kas tümörlerinin

değerlendirilmesinde hücre siklus belirleyicilerinden olan p16 ve p21'in ayırıcı tanıdaki rolünü ve leiomyosarkom olgularında bu proteinlerin prognostik önemini araştırmayı amaçladık.

p16 proteini bir CDK inhibitörü olup, negatif hücre siklus regülatörü olarak görev yapmaktadır. Çeşitli çalışmalar p16'yı kodlayan genin malign tümörlerin önemli bir kısmında delesyona uğradığını göstermektedir (98,99). Cohen ve Geradts (100) leiomyosarkom, fibrosarkom ve osteosarkom gibi çeşitli insan sarkomlarında p16 kaybını araştırmış ve 59 sarkomdan 16'sında anormal p16 ekspresyonu saptamışlardır. Bu çalışmada p16 kaybını en sık gösteren tümörlerin leiomyosarkomlar olduğu ortaya konmuştur. Zhai ve ark. (101)'nin çalışmasında hemen tüm uterin leiomyosarkomlarda p16 ve diğer tümör süpresör genlerde (TP53, RB1, WT1 gibi) genlerde değişiklikler olduğu gözlenmiş olup, leiomyomlar ve STUMP'larda heterozigozite kaybı görülmemiştir. İmmünohistokimyasal olarak diffüz p16 pozitifliği gastrik adenokarsinomlar (102), lenfomalar (103) ve akciğer tümörleri (104) gibi çeşitli tümörlerde gösterilmiştir. Son yıllarda, p16'nın jinekolojik patolojideki tanısal yararlılığı çeşitli immünohistokimyasal çalışmalarla araştırılmıştır. Pozitif p16 boyanmasının CIN içermeyen atipik immatür skuamöz metaplazi ve CIN ile birlikte olan immatür metaplastik skuamöz epitel ayırmada yararlı olabileceği bildirilmiştir (105). Negri ve ark. (106) p16 pozitifliği gösteren düşük dereceli CIN olgularının, yüksek dereceli CIN'e ilerleme olasılığının p16-negatif lezyonlara nazaran daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Qiao ve ark. (107) p16'nın yüksek dereceli CIN lezyonlarının atrofik skuamöz epitel, immatür skuamöz metaplazi ve transizyonel metaplaziden ayırılmasında yararlı olduğunu ortaya koymuşlardır. Van de Putte ve ark. (108) p16 proteininin normal skuamöz epitelde eksprese olmadığını, buna karşın skuamöz servikal kanserlerde artmış ekspresyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Cameron ve ark. (109) p16 proteininin, servikal adenokarsinoma in situ (diffüz pozitif) ile bunu taklit eden tuboendometrial metaplazi ve endometriozis gibi lezyonların (negatif veya fokal pozitif) ayırımında yararlı olduğunu göstermişlerdir. Vulvada, p16'nın HPV-ilişkili VIN (p16-pozitif) ve HPV ile ilişkili olmayan VIN lezyonlarının (p16-negatif) ayırıcı tanısında da önemli rolü olduğu ortaya konmuştur (110).

Uterin düz kas tümörlerinde p16 ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak araştırıldığı az sayıda çalışma mevcuttur (1,11,13). Bodner-Adler ve ark. (1) çeşitli uterin düz kas tümörlerinde (leiomyom, STUMP, leiomyosarkom) p16'nın immünohistokimyasal boyanma farklılıklarını araştırmış ve p16'nın leiomyom ve STUMP olgularında, leiomyosarkom olgularına göre anlamlı derecede düşük oranda ve düşük şiddette boyanma gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, leiomyosarkomlardaki artmış p16 ekspresyonunun sebebinin bilinmediğini, ancak bunun, artmış ekspresyon gösteren p16'nın genetik olarak değişikliğe uğramış ve biyolojik olarak inaktif olması ile açıklanabileceğini öne sürmüşlerdir. O'Neill ve ark. (11)'nin çalışmasında da benzer şekilde, leiomyosarkomlarla diğer düz kas tümörleri arasında (leiomyom ve STUMP) p16 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından anlamlı farklılığın bulunduğu görülmüştür. Bu çalışmada ayrıca p53 ve MIB-1 ekspresyonlarının da leiomyosarkomlarla diğer tümörler arasında anlamlı farklılık gösterdiği ortaya konmuş olup, p16'nın p53 ve MIB-1 ile kombine edilmesinin problemlili düz kas tümörlerinin değerlendirilmesinde morfolojik incelemeye ek olarak değerli olabileceği vurgulanmıştır. Araştırmacılar p16'nın malign uterin düz kas tümörlerinin patogeneğinde rol oynayabileceğini, p16 artmış ekspresyonunun aberran RB fonksiyonel yolunda indirekt bir olay olarak oluştuğunu ve uterin leiomyosarkomlarda RB yolunun bazı mekanizmalarla disfonksiyonel hale getirilmiş olabileceğini bildirmişlerdir. Atkins ve ark. (13)'nin çalışmasında 15 uterin leiomyosarkom olgusundan 11'inde kuvvetli ve diffüz p16 ekspresyonu saptanırken, 22 leiomyom olgusundan sadece 3'ünde fokal p16 boyanması gözlenmiş olup, bu iki antijenin ayırımında p16'nın yararlı olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmaya dahil edilen 8 STUMP olgusundan 3'ünde zaman içerisinde metastatik hastalık gelişmiş olup, metastatik hastalık gelişen olguların 2'sinin ilk tanı anındaki örneklerinde kuvvetli ve diffüz p16 pozitifliği saptanmıştır. Histolojik olarak bu 2 tümörün koagülatif tümör hücre nekrozu ve sadece hafif derecede sitolojik atipi gösterdiği gözlenmiştir. Bu çalışmada, nekroz tipinin belirsiz olduğu olgularda (koagülatif tümör hücre nekrozu/hyalinize nekroz) p16'nın leiomyosarkom olarak klasifiye edilmesi gereken STUMP olgularının ayırımında yardımcı olabileceği vurgulanmıştır. Araştırmacılar bir tümör süpresör gen olan p16'nın leiomyosarkomlarda artmış ekspresyon göstermesinin paradoks olduğunu, bunun mutasyona uğramış bir gen

veya nonfonksiyonel bir proteinle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Skubitz ve Skubitz (111)'in yaptıkları gen ekspresyon çalışmasında da, normal myometriyum ve uterin leiomyomlarla kıyaslandığında, leiomyosarkom olgularında (uterin ve nonuterin) p16 overekspresyonu bildirilmiştir.

Çalışmamızda, p16 ile 21 leiomyosarkom olgusunun 20'sinde (%95) boyanma mevcut olup, boyanma yüzdesi %0-77 arasında değişmekteydi. Leiomyosarkom olgularından sadece 4'ü p16 ile negatif veya %10'dan az boyanma gösterdi. Atipik leiomyomu olan 14 olgudan sadece 1'inde, STUMP'u olan 3 olgudan sadece 1'inde %10'un üzerinde p16 boyanması gözlenirken, leiomyom olgularından hiçbirinde %10'u aşan boyanma görülmedi. Leiomyom, atipik leiomyom ve STUMP olguları arasında p16 ile hem boyanma yüzdeleri, hem de boyanma şiddetleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Çalışmamızda leiomyomlar ile STUMP olgularının benzer p16 immünohistokimyasal profiline sahip olduklarının ortaya konması, STUMP olgularının bildirilen iyi prognozu ile uyumlu görünmektedir. Ayrıca, uterin leiomyosarkomların, leiomyom ve STUMP olgularına nazaran yüksek p16 ekspresyonu göstermeleri, bu belirleyicinin histopatolojik ayırıcı tanılarında problem yaşanan olguların ayırımında yardımcı olabileceğini düşündürmektedir.

p21, CDK inhibitörlerinin cip/kip ailesi üyelerinden olup, siklin-CDK komplekslerinin negatif regülatörüdür. Çeşitli tümörlerde artmış p21 ekspresyonu saptanmıştır (112-114). Eksternal yumuşak dokunun düz kas tümörlerinde CDK inhibitörlerinin ekspresyonlarının incelendiği bir çalışmada, tüm leiomyom ve leiomyosarkom olgularında p21'in eksprese olduğu saptanmıştır (115). Bu çalışmada, leiomyom ve leiomyosarkom olguları arasında, p21 ile boyanma gösteren tümör hücre yüzdesi açısından anlamlı bir fark görülmemiştir.

Jinekolojik patolojide çeşitli dokularda p21 ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Normal servikal skuamöz epitelde p21 ekspresyonu saptanmazken, erken skuamöz servikal kanser olgularının %20'sinde yüksek p21 ($\geq 5\%$ pozitiflik) ekspresyonu görülmüştür (108). Araştırmacılar, invaziv servikal kanserde p21 seviyesinde artış olmasının, p21'in hücre siklus kontrol fonksiyonu ile ters olduğunu, ancak bu artışın muhtemelen azalmış veya by-pass edilmiş fonksiyonlarına cevap olarak gelişmiş olabileceğini öne sürmüşlerdir. Knopp ve ark. (116) vulvar karsinomlu olguların

%42'sinde yüksek p21 protein seviyeleri saptamışlardır. Bu çalışmada yüksek p21 seviyeleri, FIGO evre I ve II tümörü olan hastalarda kısa sağkalım ile ilişkili olarak bulunmuştur.

Uterin düz kas tümörlerinde p21 ekspresyonu ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur (2,9). Leiser ve ark. (2)'nin çalışmasında p21, uterin leiomyosarkom olgularının %42'sinde pozitif bulunurken, leiomyom olgularında p21 pozitifliği saptanmamıştır. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Araştırmacılar p21 proteininin leiomyosarkom gelişimi için önemli bir eleman olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bir başka çalışmada, 10 uterin leiomyom olgusundan 4'ünde p21 ile fokal pozitiflik saptanırken, diğer olgularda boyanma görülmemiştir (9). Çalışmaya dahil edilen 10 uterin leiomyosarkom olgusunun tamamında fokal (6/10) veya diffüz (4/10) p21 pozitifliği saptanmıştır.

Çalışmamızda, uterin leiomyosarkom olgularının tamamında (21/21) p21 pozitifliği izlenirken, olguların 20'sinde boyanan hücre yüzdesi %10'un üzerinde bulundu. Leiomyom, atipik leiomyom ve STUMP olguları arasında sadece birer olguda p21 ile boyanma yüzdesi %10'un üzerinde saptandı. Gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında, uterin leiomyosarkomların, leiomyom, atipik leiomyom ve STUMP olgularına nazaran yüksek yüzdede ve şiddette p21 ekspresyonu gösterdikleri görüldü. Leiomyosarkom olguları dışındaki diğer üç grubun (leiomyom, atipik leiomyom, STUMP) p21 ile hem boyanma yüzdeleri, hem de boyanma şiddetleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği gözlemlendi. Bulgularımız, p21 protein ekspresyonunun değerlendirilmesinin tanı gücünü yaratan uterin düz kas tümörlerinin ayırımında yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Uterin leiomyosarkomlarda en önemli prognostik parametre tümör evresidir (21,10,65-68). Evre dışında, tümör boyutu, mitotik aktivite, grade, vasküler invazyon, infiltratif sınır, östrojen ve progesteron reseptör durumu, Ki-67 ve p53 ekspresyonları ile DNA ploidinin de prognostik öneme sahip olabileceği bildirilmiştir. Ancak, benzer klinikopatolojik özelliklere sahip tümörlerin farklı davranış gösterebildiği bilinmektedir. Bu nedenle, uterin leiomyosarkom olgularında, hastalığın gidişinin güvenilir bir şekilde tahmin edilebilmesini sağlayacak yeni prognostik faktörlere gereksinim duyulmaktadır. Uterin leiomyosarkomlarda p16 ve p21 gibi CDK inhibitörlerinin prognostik rolünü inceleyen çok az sayıda çalışma

mevcuttur (1,2,13),. Atkins ve ark. (13) 15 uterin leiomyosarkom olgusunu içeren çalışmalarında p16'nın hastalığın gidişi ile korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Bu çalışmada kötü klinik gidişe sahip tümörlerin daha büyük oranda diffüz p16 pozitifliğine sahip olduğu görülmüştür. Buna karşın, Bodner-Adler ve ark. (1)'nin çalışmasında, leiomyosarkom olgularında p16 ekspresyonu ile çeşitli klinikopatolojik parametreler (klinik evre, vasküler tutulum, yaş, rekürren hastalık) arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Bu çalışmada p16-pozitif ve p16-negatif olgular arasında genel sağkalım açısından da farklılık bulunmamıştır. Leiser ve ark. (2)'nin 36 uterin leiomyosarkomu içeren çalışmalarında, p21 ile rekürrens zamanı ve genel sağkalım arasında korelasyon saptanmamıştır. Buna karşın, ektrauterin leiomyosarkomlarda p21-negatif grubun p21-pozitif gruba göre lokal rekürrens açısından daha yüksek riske sahip olduğu bildirilmiştir (115). Çalışmamızda uterin leiomyosarkomlarla ilgili diğer iki çalışmada olduğu gibi, p16 ve p21 ekspresyonu ile rekürrens ve genel sağkalım arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Genel sağkalım açısından anlamlı tek parametrenin evre olduğu belirlendi. p16 ve p21 ekspresyonu ile diğer klinikopatolojik parametreler (yaş, tümör çapı, mitotik aktivite, grade, vasküler tutulum, evre, metastaz varlığı) arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi.

Sonuç olarak, bulgularımız CDK inhibitörleri p16 ve p21'in tanı güçlüğü olan uterin düz kas tümörlerinin ayırıldedilmesinde yararlı olabileceğini göstermektedir. Bulgularımız ayrıca, p16 ve p21 ekspresyonunun uterin leiomyosarkom olgularında rekürrens ve genel sağkalım açısından güvenilir bir bilgi sağlamadığını ortaya koymaktadır. Ancak, bu iki proteinin uterin düz kas tümörlerinin ayırıcı tanısında rutin klinik pratikte kullanılabilmesi için, bulguların daha geniş hasta gruplarını içeren yeni çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

SONUÇ

1. Bu çalışmada Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivlerinde yer alan 53 adet uterin düz kas tümörü olgusu çalışmaya alındı.
2. Çalışmaya alınan 53 olgunun 21'i leiomyosarkom, 14'ü atipik leiomyom, 15'i leiomyom, 3'ü malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (STUMP) idi.
3. Olgulara ait mikroskopik özellikler yeniden gözden geçirildi. Mikroskopik incelemede sitolojik atipi, mitotik aktivite, koagülatif tümör nekrozu ve vasküler tutulum varlığı, tümörün hücresellliği ve çevre doku ile ilişkisi değerlendirildi.
4. Leiomyom olgularının tanı anındaki yaşları 37-61 (ortalama 47.33), atipik leiomyom olgularının yaşları 37-51 (ortalama 45.93), STUMP olgularının yaşları 39-51 (ortalama 45.67), leiomyosarkom olgularının yaşları ise 39-78 (ortalaması 58.14) arasında değişmekteydi.
5. Tümör çapı leiomyom olgularında 1.2-11 cm (ortalama 4.32), atipik leiomyom olgularında 1-7.5 cm (ortalama 4.33), STUMP olgularında 3-14 cm (ortalama 10), leiomyosarkom olgularında ise 4-26 cm (ortalama 16.75) arasında saptandı.
6. Leiomyosarkom olgularının tümünde koagülatif tümör hücre nekrozu mevcuttu. Leiomyosarkom olgularının mitoz sayıları 2-48/10 BBA arasında değişmekteydi (ortalama 16.75). Leiomyom olgularının tümünde mitoz sayısı 10 BBA'nda 5'in altında bulundu. Mitoz sayısı atipik leiomyom olgularında 0-8/10 BBA (ortalama 2.92), STUMP olgularında 2-9/10 BBA (ortalama 4.33) arasında değişmekteydi. Leiomyosarkom olgularından 4'ünde (%19) vasküler tutulum mevcuttu.
7. FNCLCC derecelendirme sistemine göre 21 leiomyosarkom olgusunun 3'ü (%14.28) grade 1, 9'u (%42.85) grade 2 ve kalan 9'u (%42.85) grade 3 özellikliydi. FIGO klinik evrelemesinde 12 olgu (%57.14) evre I, 1 (%4.76) olgu evre II, 5 olgu (%23.80) evre III ve 3 olgu (%14.28) evre IV olarak evrelendirilmişti.
8. Evre IV olgulardan 2'sinde tanı anında uzak metastaz (akciğer ve karaciğer) saptanmış olup, diğer olguda mesane, pelvik yan duvar ve batin ön duvarına tümöral invazyon mevcuttu. Takipler sırasında bu olgular dışında 2 olguda daha uzak metastaz (karaciğer ve beyin) saptandı.
9. Leiomyosarkom olgularında lenf nodu tutulumu gözlenmedi.

10. Leiomyosarkom olgularının takiplerinde, 5 olguda (%23.8) 3-40 ay arasında değişen sürelerde rekürrens gözlendi. Olgulardan 16'sında (%76.1) tümör nedeni ölüm saptanmış olup, bu olguların tanı sonrası yaşam süreleri 3-92 ay (ortalama 20.3) arasında değişmekteydi.

11. İmmünohistokimyasal değerlendirmede p16 ile 21 leiomyosarkom olgusundan 20'sinde (%95.2) boyanma mevcut olup, boyanma yüzdesi %0-77 arasında değişmekteydi. Boyanma şiddeti, boyanmanın görüldüğü olgulardan 13'ünde (+++), 3'ünde (++) , 4'ünde (+) olarak saptandı. p21 ile tüm leiomyosarkom olgularında boyanma gözlenmiş olup, boyanma yüzdesi %1-95 arasında değişmekteydi. Boyanma şiddeti, olgulardan 10'unda (+++), 6'sında (++) , 5'inde (+) olarak bulundu.

12. STUMP olgularından sadece 1'inde (%33.33) p16 ile boyanma saptanmış olup, boyanma yüzdesi %12, boyanma şiddeti (++) idi. p21 ile 2 olguda (%66.66) boyanma gözlenmiş olup, boyanma yüzdesi %1 ve %11, boyanma şiddeti (+) ve (++) olarak saptandı.

13. Atipik leiomyom olgularından 2'sinde (%14.28) p16 ile boyanma gözlenmiş olup, boyanma yüzdesi %1 ve %21, boyanma şiddeti (+) ve (++) idi. p21 ile atipik leiomyom olgularından 7'sinde (%50) %1-12 arasında boyanma mevcuttu. Boyanma şiddeti 2 olguda (+), 4 olguda (++) , 1 olguda (+++) olarak saptandı.

14. p16 ile leiomyom tanısı olan 15 olgunun 5'inde (%33.33) boyanma izlenmiş olup, bu olguların tamamında boyanma yüzdesi %10'un altındaydı. Boyanma şiddeti, boyanmanın görüldüğü olgulardan 3'ünde (++) , 2'sinde (+) olarak saptandı. p21 ile 15 leiomyom olgusunun 5'inde (%33.33) boyanma izlenmiş olup, olguların 4'ünde boyanma yüzdesi %10'un altında, 1 olguda ise %11 olarak bulundu. Olgulardan 4'ünde boyanma şiddeti (++) , 1 olguda ise (+++) olarak saptandı.

15. Fisher's exact test ile leiomyosarkom, atipik leiomyom, leiomyom ve STUMP olgularının p16 ile boyanma yüzde ve şiddetleri karşılaştırıldığında, leiomyosarkom olgularıyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($P<0.05$).

16. Fisher's exact test ile leiomyosarkom, atipik leiomyom, leiomyom ve STUMP olgularının p21 ile boyanma yüzde ve şiddetleri karşılaştırıldığında, leiomyosarkom olgularıyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($P<0.05$).

17. Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından atipik leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$).
18. Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından atipik leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$).
19. Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$).
20. Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından leiomyom olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$).
21. Leiomyosarkom olguları, p16 boyanma yüzdesi ve şiddeti açısından STUMP olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$).
22. Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma yüzdesi açısından STUMP olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$).
23. Leiomyosarkom olguları, p21 boyanma yüzdesi açısından STUMP olgularıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P>0.05$).
24. Leiomyom, atipik leiomyom ve STUMP olguları, p16 ve p21 ile boyanma yüzdeleri ve boyanma şiddetleri açısından karşılaştırıldığında, bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P>0.05$).
25. Leiomyosarkom olgularına ait klinikopatolojik bulgular ile p16 ve p21 belirleyicilerine ait boyanma yüzdeleri arasındaki korelasyon Pearson ki-kare exact test ile araştırıldı. Her iki belirleyicinin boyanma yüzdelerinin median değerleri *cut-off* değer olarak kabul edilerek, olgular boyanma yüzdeleri açısından iki gruba ayrıldı. p16 için *cut-off* değeri %45, p21 için %40 olarak saptandı. p16 ve p21 immünohistokimyasal boyanma yüzdeleri ile klinikopatolojik parametreler arasında korelasyon saptanmadı ($P>0.05$).
26. Tek ve çok değişkenli Cox proportional hazards regresyon analizinde, rekürrens ile klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($P>0.05$).
27. Leiomyosarkom olgularında genel sağkalım açısından anlamlı olabilecek parametreleri ortaya koyabilmek için uygulanan çok değişkenli Cox proportional

hazards regresyon (backward stepwise) analizinde, klinikopatolojik parametrelerden sadece evrenin (I+II vs III+IV) bağımsız bir öneme sahip olduğu bulundu ($p<0.05$).

28. Leiomyosarkom olgularında, tek değişkenli analizde de, klinikopatolojik parametrelerden sadece evrenin (I+II vs III+IV) genel sağkalım açısından anlamlı olduğu bulundu ($P<0.05$).

29. Leiomyosarkom olgularının p16 ve p21 boyanma yüzdelerine göre genel ve rekürrensiz sağkalımları Kaplan Meier metodu ile analiz edilmiş olup, log-rank testte anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

KAYNAKLAR

1. Bodner-Adler B, Bodner K, Czerwenka K, Kimberger O, Leodolter S, Mayerhofer K, Expression of p16 protein in patients with uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical analysis. *Gynecol Oncol.* 2005;96:62-6.
2. Leiser AL, Anderson SE, Nokada D, Chuai S, Olshen AB, Chi DS, Soslo A, Apoptotic and cell cycle regulatory markers in uterine leiomyosarcoma. *Gynecol Oncol.* 2006;101:86-91.
3. Mayerhofer K, Obermair A, Windbichler G, Petru E, Kaider A, Hefler L, Czerwenka K, Leodolter S, Kainz C. Leiomyosarcoma of the uterus: a clinicopathologic multicenter study of 71 cases. *Gynecol Oncol* 1999; 74: 196-201.
4. Mayerhofer K, Lozanov P, Bodner K, Bodner-Adler B, Kimbeger O, Czerwenka K. Ki-67 expression in patients with uterine leiomyomas, uterine smooth muscle tumors of uncertain malignant potential (STUMP) and uterine leiomyosarcomas (LMS). *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83:1085-8.
5. Zhai YL, Nikaido T, Shiozawa T, Orii A, Fujii S. Expression of cyclins and cyclin-dependent kinases in smooth muscle tumors of the uterus. *Int J Cancer.* 1999 21;84:244-50.
6. Rath-Wolfson Lea, Rosenblat Y, Halpern M, Herbet M, Hammel I, Gal R, Leabu M, Koren R. A new scoring system using multiple immunohistochemical markers for diagnosis of uterine smooth muscle tumors. *J Cell Mol Med.* 2006;10:197-205.
7. Mittal K, Demopoulos RI. MIB-1 (Ki-67), p53, estrogen receptor, and progesterone receptor expression in uterine smooth muscle tumors. *Hum Pathol.* 2001;32:984-7.

8. Jeffers MD, Farguharson MA, Richmond JA, McNicol AM. p53 immunoreactivity and mutation of the p53 gene in smooth muscle tumours of the uterine corpus. *J Pathol.* 1995 Sep;177(1):65-70.
9. Palazzo JP, Mercer WE, Kovatich AJ, McHugh M. Immunohistochemical localization of p21(WAF1/CIP1) in normal, hyperplastic, and neoplastic uterine tissues. *Hum Pathol.* 1997;28:60-6.
10. Akhan SE, Yavuz E, Tecer A, Iyibozkurt CA, Topuz S, Tuzlali S, Bengisu E, Berkman S. The expression of Ki-67, p53, estrogen and progesterone receptors affecting survival in uterine leiomyosarcomas. A clinicopathologic study. *Gynecol Oncol.* 2005;99:36-42.
11. O'Neill CJ, McBrie HA, Connolly LE, McCluggage WG. Uterine leiomyosarcomas are characterized by high p16, p53 and MIB1 expression in comparison with usual leiomyomas, leiomyoma variants and smooth muscle tumours of uncertain malignant potential. *Histopathology.* 2007;50:851-8.
12. Layfield LJ, Liu K, Dodge R, Barsky SH. Uterine smooth muscle tumors: utility of classification by proliferation, ploidy, and prognostic markers versus traditional histopathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:221-7.
13. Atkins KA, Arronte N, Darus CJ, Rice LW. The use of p16 in enhancing the histologic classification of uterine smooth muscle tumors. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32: 98-102.
14. Hendrickson MR, Kempson RL. Pure mesenchymal neoplasm of the uterine corpus. In: Fox H, Wells M, editors. *Obstetrical and Gynaecological Pathology.* 4 th ed. New York:Churchill Livingstone; 1995.p.519-586.
15. Hendrickson MR, Longacre TA, Kempson RL. The Uterine Corpus. In: Sternberg SS, editor. *Diagnostic Surgical Pathology.* 3th ed. Philadelphia:

Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p.2203-2306.

16. Taylor H, Norris H. Mesenchymal tumors of the uterus IV. Diagnosis and prognosis of leiomyosarcoma. *Arch Pathol.* 1966; 82:40-4.
17. Burns B, Curry RH, Bell MEA. Morphologic features of prognostic significance in uterine smooth muscle tumors: a review of 84 cases. *Am J Obstet Gynecol.* 1979; 135:109-14.
18. Zaloudek C, Hendrickson MR. Mesenchymal Tumors of the Uterus. In: Kurman RJ, editor. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract..* 5 th ed. New York: Springer-Verlag; 2002. p. 561-615.
19. Bell SW, Kempson RL, Hendrickson MR. Problematic uterine smooth muscle neoplasms. A clinicopathologic study of 213 cases. *Am J Surg. Pathol.* 1994;18:535-58.
20. Perrone T, Dehner LP. Prognostically favorable "mitotically active" smooth-muscle tumors of the uterus. A clinicopathologic study of ten cases. *Am J Surg. Pathol.* 1988;12:1-8.
21. Larson B, Silfversward C, Nilsson B, Petterson F. Prognostic factors in uterine leiomyosarcoma. A clinical and histopathological study of 143 cases. The Radiumhemmet series 1936-1981. *Acta Oncol.* 1990;29:185-91.
22. Hilsenbeck SG, Allred DC. Improved methods of estimating mitotic activity in solid tumors. *Hum Pathol.* 1992;23:601-2.
23. Van Diest PJ, Baak JP, Matze-Cok P, Wisse-Brekelmans EC, van Galen CM, Kurver PHJ, Bellot SM, Fijnheer J, van Gorp LHM, Kwee WS, Los J, Peterse JL, Ruitenbergh HM, Schapers RFM, Schipper MEI, Somson JG, Willig AWPM, Ariens TH. Reproducibility of mitosis counting in 2,469 breast cancer specimens:

- results from the Multicenter Morphometric Mammary Carcinoma Project. *Hum Pathol.* 1992;23:603-7.
24. Scully RE, Bonfiglio, TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ. World Health Organization international histological classification of tumors: histological typing of female genital tract tumors, 2nd ed. Berlin: Springer;1994.
 25. Vollenhoven B. Introduction: the epidemiology of uterine leiomyomas. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1998;12:169-76.
 26. Cramer SF, Patel A. The frequency of uterine leiomyomas. *Am J Clin Pathol.* 1990;94:435-8.
 27. Andersen J. Factors in fibroid growth. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1998;12:225-43.
 28. Viville B, Chanock- Jones DS, Shakey AM, Wetzka B, Smith SK. Distribution of the A and B forms of the progesterone receptor messenger ribonucleic acid and protein in uterine leiomyomata and adjacent myometrium. *Hum Reprod.* 1997;12:815-22.
 29. Sene AB, Seçkin NC, Ozmen S, Göken O, Doğu N, Ekici F. The effects of hormone replacement therapy on uterine fibroids in postmenopausal women. *Fertil Steril.* 1996;65:354-7.
 30. Lumsden MA, Wallace EM. Clinical presentation of uterine fibroids. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1998;12:177-95.
 31. Nedwich A, Frumin A, Meranze DR. Erythrocytosis associated with uterine myomas. *Am J Obstet Gynecol.* 1962; 84:174-8.
 32. Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins Pathologic Basis of Disease; Neoplasia.*

6 th ed. W.B. Saunders Compony;1999.p.260-327.

33. Cramer SF, Horiszny J, Pattel A, Sigrist S. The relation of fibrous degeneration to menopausal status in small uterine leiomyomas with evidence for postmenopausal origin of seedling myomas. *Mod Pathol.* 1996;9:774-80.
34. Colgan TJ, Pendergast S, Le Blanc M. The histopathology of uterine leiomyomas following treatment with gonadotropin-releasing hormone analogues. *Hum Pathol.* 1993; 24:1073-7.
35. Colgan TJ, Pron G, Mocarski EJM, Bennett JD, Asch MR, Common A. Pathologic features of uteri and leiomyomas following uterine artery embolization for leiomyomas. *Am J Surg Pathol.* 2003; 27:167-77.
36. Prayson RA, Hart WR. Mitotically active leiomyomas of the uterus. *Am J Clin Pathol.* 1992;97:14-20.
37. Christopherson WM, Williamson EO, Gray LA. Leiomyosarcoma of the uterus. *Cancer.* 1972;29:1512-7.
38. Norris HJ, Hilliard GD, Ireys NS. Hemorrhagic cellular leiomyomas (apoplectic leiomyoma) of the uterus associated with pregnancy and oral contraceptives. *Nt J Gynecol Pathol* 1988;7:212-24.
39. Upadhyaya NB, Doody MC, Googe PB. Histopathological changes in leiomyomata treated with leuprolide acetate. *Fertil Steril.* 1990; 54:811-4.
40. Sreenan JJ, Prayson RA, Biscotti CV, Thornton MH, Easley KA, Hart WR. Histopathologic findings in 107 uterine leiomyomas treated with leuprolide acetate compared with 126 controls. *Am J Surg Pathol.* 1996;20:427-32.
41. Prakash S, Scully RE. Sarcoma-Like Pseudopregnancy Changes in Uterine Leiomyomas. *Obstet Gynecol.* 1964;24:106-10.

42. Downes KA, Hart WR. Bizarre leiomyomas of the uterus: a comprehensive pathologic study of 24 cases with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol.* 1997; 21:1261-70.
43. Kurman RJ, Norris HJ. Mesenchymal tumors of the uterus. VI. Epithelioid smooth muscle tumors including leiomyoblastoma and clear-cell leiomyoma: a clinical and pathologic analysis of 26 cases. *Cancer.* 1976;37:1853-65.
44. Benda JA. Pathology of smooth muscle tumors of the uterine corpus. *Clin Obstet Gynecol.* 2001; 44:350-63.
45. Kaminski PF, Tavassoli FA. Plexiform tumorlet: a clinical and pathologic study of 15 cases with ultrastructural observations. *Int J Gynecol Pathol.* 1984;3:124-34.
46. Silva EG, Tornos C, Ordonez NG, Morris M. Uterine leiomyosarcoma with clear cell areas. *Int J Gynecol Pathol.* 1995;14:174-8.
47. Wilkinson N, Rollason TP. Recent advances in the pathology of smooth muscle tumours of the uterus. *Histopathology.* 2001;39:331-41.
48. Aung T, Goto M, Nomoto M, Kitajima S, Douchi T, Yoshinaga M, Yonezawa S. Uterine lipoleiomyoma: A histopathological review of 17 cases. *Pathol Int.* 2004;54: 751-8.
49. Grignon DJ, Carey MR, Kirk ME, Robinson ML. Diffuse uterine leiomyomatosis: a case study with pregnancy complicated by intrapartum hemorrhage. *Obstet Gynecol.* 1987;69:477-80.
50. Clement PB. Intravenous leiomyomatosis of the uterus. *Pathol Ann.* 1988; 23:153-83.

51. Cooper MM, Guillem J, Dalton J, Marboe CC, Corwin S, Todd GJ, Rose EA. Recurrent intravenous leiomyomatosis with cardiac extension. *Ann Thorac Surg.* 1992;53:139-41.
52. Clement PB, Young RH, Scully RE. Intravenous leiomyomatosis of the uterus: a clinicopathological analysis of 16 cases with unusual histologic features. *Am J Surg Pathol.* 1988;12:932-45.
53. Esteban JM, Allen WM, Schaerf RH. Benign metastasising leiomyoma of the uterus: histologic and immunohistochemical characterization of primary and metastatic lesions. *Arch Pathol Lab Med.* 1999;123:960-2.
54. Juan Rosai, MD. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology: Female reproductive system, 9 th ed. Edinburgh: Mosby; 2004.p.1483-762.
55. Kayser K, Zink S, Schneider T, Dienemann H, Andre S, Kaltner H, Schuring MP, Zick Y, Gabius HJ. Benign metastasising leiomyoma of the uterus: documentation of clinical, immunohistochemical and lectin-histochemical data of ten cases. *Virchows Arch.* 2000;437:284-92.
56. Deyer L, Simson IW, Sevenster CB, Dittrich OC. Leiomyomatosis peritonealis disseminata. A report of two cases and a review of the literature. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985;92:856-61.
57. Due W, Pickartz H. Immunohistologic detection of estrogen and progesteron receptors in disseminated peritoneal leiomyomatosis. *Int J Gynecol Pathol.* 1989;8: 46-53.
58. Vardi JR, Tovell HMM. Leiomyosarcoma of the uterus: clinicopathologic study. *Obstet Gynecol.* 1980;56:428-34.
59. Wu TI, Chang TC, Hsueh S, Hsu KH, Chou HH, Huang HJ, Lai CH. Prognostic

- factors and impact of adjuvant chemotherapy for uterine leiomyosarcoma. *Gynecol Oncol.* 2006;100:166-72.
60. Major FJ, Blessing JA, Silverberg SG, Morrow CP, Creasman WT, Currie JL, Yordan E, Brady MF. Prognostic factors in early-stage uterine sarcoma. A Gynecologic Oncology Group study. *Cancer.* 1993;71(Suppl):1702-9.
61. Goff BA, Rice LW, Fleischhacker D, Muntz HG, Falkenberry SS, Nikrui N, Fuller AF Jr. Uterine leiomyosarcoma and endometrial stromal sarcoma: lymph node metastases and sites of recurrence. *Gynecol Oncol.* 1993;50:105-9.
62. Berchuck A, Rubin SC, Hoskins WJ, Saigo PE, Pierce VK, Lewis JL Jr. Treatment of uterine leiomyosarcoma. *Obstet Gynecol.* 1988;71:845-50.
63. Gard GB, Mulvany NJ, Quinn MA. Management of uterine leiomyosarcoma in Australia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 1999;39:93-8.
64. Hornback N, Omura G, Major F. Observations on the use of adjuvant radiation therapy in patients with stage I and II uterine sarcoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1986;12:2127-30.
65. Blom R, Malmstrom H, Guerrieri C. Leiomyosarcoma of the uterus: a clinicopathologic, DNA flow cytometric, p53, and mdm-2 analysis of 17 cases. *Int J Gynecol Cancer.* 1999;9:98-104.
66. Gadducci A, Landoni F, Sartori E, Zola P, Maggino T, Lissoni A, Bazzurini L, Arisio R, Romagnolo C, Cristofani R. Uterine leiomyosarcoma: analysis of treatment failures and survival. *Gynecol Oncol.* 1996;62:25-32.
67. Marchese MJ, Liskow AS, Crum CP, McCaffrey RM, Frick HC. Uterine sarcomas: a clinicopathologic study, 1965-1981. *Gynecol Oncol.* 1984;18:299-312.

68. Mayerhofer K, Obermair A, Windbichler G, Petru E, Kaider A, Hefler L, Czerwenka K, Leodolter S, Kainz C. Leiomyosarcoma of the uterus: a clinicopathologic multicenter study of 71 cases. *Gynecol Oncol.* 1999;74:196-201.
69. Evans HL, Chawla SP, Simpson C, Finn KP. Smooth muscle neoplasms of the uterus other than ordinary leiomyoma. A study of 46 cases, with emphasis on diagnostic criteria and prognostic factors. *Cancer.* 1988;62:2239-47.
70. Jones MW, Norris HJ. Clinicopathologic study of 28 uterine leiomyosarcomas with metastasis. *Int J Gynecol Pathol.* 1995;14:243-9.
71. Wu TI, Chang TC, Hsueh S, Hsu KH, Chou HH, Huang HJ, Lai CH. Prognostic factors and impact of adjuvant chemotherapy for uterine leiomyosarcoma. *Gynecol Oncol.* 2006;100:166-72.
72. Mayerhofer K, Lozanov P, Bodner K, Bodner-Adler B, Obermair A, Kimberger O, Czerwenka K. Ki-67 and vascular endothelial growth factor expression in uterine leiomyosarcoma. *Gynecol Oncol.* 2004;92:175-9.
73. Barter JF, Smith EB, Szpak CA, Hinshaw W, Clarke-Pearson DL, Creasman WT. Leiomyosarcoma of the uterus: clinicopathologic study of 21 cases. *Gynecol Oncol.* 1985;21:220-7.
74. Hart WR, Billman JK Jr. A reassessment of uterine neoplasms originally diagnosed as leiomyosarcomas. *Cancer.* 1978;41:1902-10.
75. Major FJ, Blessing JA, Silverberg SG, Morrow CP, Creasman WT, Currie JL, Yordan E, Brady MF. Prognostic factors in early-stage uterine sarcoma: a Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer.* 1993;71:1702-9.
76. Pautier P, Genestie C, Rey A, Morice P, Roche B, Lhomme C, Haie-Meder C,

- Duvillard P. Analysis of clinicopathologic prognostic factors for 157 uterine sarcomas and evaluation of a grading score validated for soft tissue sarcoma. *Cancer*. 2000;88:1425-31.
77. Nordal RR, Kristensen GB, Kaern J, Stenwig AE, Pettersen EO, Trope CG. The prognostic significance of stage, tumor size, cellular atypia and DNA ploidy in uterine leiomyosarcoma. *Acta Oncol* 1995;34:797-802.
78. Sutton GP, Stehman FB, Michael H, Young PC, Ehrlich CE. Estrogen and progesteron receptors in uterine sarcomas. *Obstet Gynecol*. 1986;68:709-14.
79. Bodner K, Bodner-Adler B, Kimberger O, Czewenka C, Leodolter S, Mayerhofer K. Estrogen and progesteron receptor expression in patients with uterine leiomyosarcoma and correlation with different clinicopathological parameters. *Anticancer Res*. 2003;23:729-32.
80. Kitaoka Y, Kitawaki J, Koshiha H, Inoue S, Ishihara H, Teramoto M, Honjo H. Aromatase cytochrome p450 and estrogen and progesteron receptors in uterine sarcomas: correlation with clinical parameters. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004; 88:183-9.
81. Jeffers MD, Oakes SJ, Richmond JA, Macauley EM. Proliferation, ploidy and prognosis in uterine smooth muscle tumours. *Histopathology*. 1997;29:217-23.
82. Tsushima K, Stanhope CR, Gaffey TA, Lieber MM. Uterine leiomyosarcomas and benign smooth muscle tumors. Usefulness of nuclear DNA patterns studied by flow cytometry. *Mayo Clin Proc*. 1988;63:248-55.
83. Loddish H, Berk A, Zipurskyb SL, Matsudairan P, Baltimore D, Darnell J. *Molecular Cell Biology: Regulation of the Eukaryotic Cell Cycle*, 4 th ed. W.H. Freeman and compony, New York;2001.p.495-536.

84. Vincenzi B, Schiavon G, Silletta M, Santini D, Perrone G, di Marino M, Angeletti S, Baldi A, Tonini G. Cell cycle alterations and lung cancer. *Histol Histopathol.* 2006;21:423-35.
85. Esposito V, Baldi A, Tonini G, Santini M, Ambrogi V, Persichetti P, Meneo TC, Baldi F, Groeger AM. Analysis of cell cycle regulator proteins in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol.* 2004;57:58-63.
86. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science.* 1991;253:49-53.
87. Resnitzky D, Gossen M, Bujard H, Reed SI. Acceleration of the G1/S phase transition by expression of cyclins D1 and E with an inducible system. *Mol Cell Biol.* 1994;14:1669-79.
88. Strauss M, Lukas J, Bartek J. Unrestricted cell cycling and cancer. *Nat Med.* 1995;1:1245-6.
89. Clurman BE, Porter P. New insights into the tumor suppression function of P27 (kip1). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 ;95:15158-60.
90. Hirama T, Koeffler HP. Role of the cyclin-dependent kinase inhibitors in the development of cancer. *Blood.* 1995;86:841-54.
91. Stein JP, Ginsberg DA, Grossfeld GD, Chatterjee SJ, Esrig D, Dickinson MG, Groshen S, Taylor CR, Jones PA, Skinner DG, Cote RJ. Effect of p21WAF1/CIP1 expression on tumor progression in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90:1072-9.
92. Cote RJ, Shi Y, Groshen S, Feng AC, Cordon-Cardo C, Skinner D, Lieskovosky G. Association of p27 Kip1 levels with recurrence and survival in patients with stage C prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90:916-20.

93. Weinert T. A DNA damage checkpoint meets the cell cycle engine. *Science*. 1997;277:1450-1.
94. Nyberg KA, Michelson RJ, Putnam CW, Weinert TA. Toward maintaining the genome: DNA damage and replication checkpoints. *Annu Rev Genet*. 2002;36:617-56.
95. Fletcher CDM, Rydholm A, Singer S, Sundaram M, Coindre JM. Soft tissue tumors: Epidemiology, clinical features, histopathological typing and grading. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editors. *Pathology and Genetics of Tumors of Soft Tissue and Bone*. Lyon:IARC Press; 2002.p.12-8.
96. Kawaguchi K, Oda Y, Saito T, Yamamoto H, Tamiya S, Takahira T, Miyajima K, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M. Mechanisms of inactivation of the p16INK4a gene in leiomyosarcoma of soft tissue: decreased p16 expression correlates with promoter methylation and poor prognosis. *J Pathol*. 2003;201:487-95.
97. Klaes R, Benner A, Friedrich T, Ridde R, Herrington S, Jenkins D, Kurman RJ, Schmidt D, Stoler M, von Knebel Doeberitz M. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:1389-99.
98. Mori T, Miura K, Nishihara T, Mori S, Nakamura Y. Frequent somatic mutation of the MTS/CDK41 gene in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res*. 1994; 54:3396-7.
99. Caldas C, Hahn SA, DaCosta LT, Redston MS, Schutte M, Seymour AB, Weinstein CL, Hruban RH, Yeo CJ, Kern SE. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet*. 1994;8:27-32.
100. Cohen JA, Geradts J. Loss of RB and MTS1/CDKN2 (p16) expression in

- human sarcomas. *Hum Pathol.* 1997;28:893-8.
101. Zhai YL, Nikaido T, Orii A, Horiuchi A, Toki T, Fujii S. Frequent occurrence of loss of heterozygosity among tumor suppressor genes in uterine leiomyosarcoma. *Gynecol Oncol.* 1999;75:453-9.
102. Vo QN, Geradts J, Boudreau DA, Bravo JC, Schneider BG. CDKN2A promoter methylation in gastric adenocarcinomas: clinical variables. *Hum Pathol.* 2002;33: 1200-4.
103. Bai M, Vlachoniklois J, Agnantis, Tsanou E, Dimou S, Nicolaides C, Stefanaki S, Pavlidis N, Kanavaros P. .Low expression of p16 protein combined with altered p53 and Rb/p16 expression status is associated with increased expression of cyclinA and cyclin B1 in diffuse large B-cell lymphomas. *Mod Pathol.* 2001;14:1105-13.
104. Levesrha MA, Fielding P, Watson S, Gosney JR, Field JK. Expression of p53, pRB, and p16 in lung tumours: a validation study on tissue microarrays. *J Pathol* 2003;200:610-9.
105. Agoff SN, Lin P, Morihara J, Mao C, Kiviat NB, Koutsky LA. p16 (INK4a) expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol.* 2003;16:665-73.
106. Negri G, Vittadello F, Romano F, Kasal A, Rivasi F, Girlando S, Mian C, Egarter-Vigl E. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch.* 2004;445:616-20.
107. Qiao X, Bhuiya TA, Spitzer M. Differentiating high-grade cervical intraepithelial lesion from atrophy in postmenopausal women using Ki-67, cyclin E and p16 immunohistochemical analysis. *J Low Genit Tract Dis.* 2005;9:100-7.

108. Van de Putte G, Holm R, Lie AK, Trope CG, Kristensen GB. Expression of p27, p21 and p16 protein in early squamous cervical cancer and its relation to prognosis. *Gynecol Oncol.* 2003;89:140-7.
109. Cameron RI, Maxwell P, Jenkins D, McCluggage WG. Immunohistochemical staining with MIB1, bcl2 and p16 assists in the distinction of cervical glandular intraepithelial neoplasia from tubo-endometrial metaplasia, endometriosis and microglandular hyperplasia. *Histopathology.* 2002;41:313-21.
110. Riethdorf S, Neffen EF, Cviko A, Löning T, Crum CP, Riethdorf L. p16 INK4A expression as biomarker for HPV16-related vulvar neoplasias. *Hum Pathol.* 2004;35:1477-83.
111. Skubitz KM, Skubitz APN. Differential gene expression in leiomyosarcoma. *Cancer.* 2003;98:1029-38.
112. Yang W, Klos KS, Zhou X, Yao J, Yang Y, Smith TL, Shi D, Yu D. ErbB2 overexpression in human breast carcinoma is correlated with p21Cip1 up-regulation and tyrosine-15 hyperphosphorylation of p34Cdc2:poor responsiveness to chemotherapy with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil is associated with Erb2 overexpression and with p21Cip1 overexpression. *Cancer.* 2003;98:1123-30.
113. Shariat SF, Tokunaga H, Zhou J, Kim J, Ayala GE, Benedict WF, Lerner SP. p53, p21, pRB, and p16 expression predict clinical outcome in cystectomy with bladder cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22:1014-24.
114. Jung JM, Bruner JM, Ruan S, Langford LA, Kyritsis AP, Kobayashi T, Levin VA, Zhang W. Increased levels of p21WAF1/CIP1 in human brain tumors. *Oncogene.* 1995;11:2021-8.

115. Dobashi Y, Noguchi T, Nasuno S, Katayama K, Kameya T. CDK-inhibitors-associated kinase activity: a possible determinant of malignant potential in smooth muscle tumors of the external soft tissue. *Int J Cancer*. 2001;94:353-62.

116. Knopp S, Bjorge T, Nesland JM, Trope C, Scheistroen M, Holm R. P16INK4A and p21Waf1/Cip1 expression correlates with clinical outcome in vulvar carcinomas. *Gynecol Oncol*. 2004;95:37-45.